Postverlagsort Berlin

PLANTA

ARCHIV FÜR WISSENSCHAFTLICHE BOTANIK

BEGRÜNDET VON **W. RUHLAND** UND **H. WINKLER**

UNTER MITWIRKUNG VON
J. BONNER-PASADENA, **A. ERNST**-ZÜRICH
H. v. GUTTENBERG-ROSTOCK, **R. HARDER**-GÖTTINGEN, **O. RENNER**-MÜNCHEN
W. RUHLAND-UNTERDEUFSTETTEN, **W. SCHUMACHER**-BONN

HERAUSGEGEBEN VON

L. BRAUNER
MÜNCHEN

E. BÜNNING
TÜBINGEN

52. BAND, 1. HEFT
MIT 54 TEXTABBILDUNGEN UND EINEM PORTRÄT
(ABGESCHLOSSEN AM 23. JULI 1958)

SPRINGER-VERLAG
BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
1958

Planta (Berl.)

Preis DM 24.80

Planta. Archiv für wissenschaftliche Botanik

Begründet 1925. Band 1—34 (1945) herausgegeben von *W. Ruhland* und *H. Winkler*. (Band 1—21, 1934, als „Zeitschrift für wissenschaftliche Biologie", Abteilung E). Band 35—47. Herausgegeben von *W. Ruhland* und *O. Renner*. Band 48—51. Herausgegeben von *W. Ruhland*, *L. Brauner* und *E. Bünning*

Die Zeitschrift „Planta", Archiv für wissenschaftliche Botanik, steht in deutscher Sprache oder einer der Kongreßsprachen, sofern sie die Muttersprache des Autors ist, abgefaßten Originalarbeiten aus dem Gesamtgebiet der Botanik, abgesehen von solchen rein systematischen oder floristischen Inhalts, offen.

Arbeiten, welche einen Vermerk des Verfassers „Kurze Mitteilung" tragen, werden sobald wie möglich außerhalb der Reihenfolge des Eingangs abgedruckt. Ihr Umfang darf 4 Druckseiten nicht überschreiten; die Beigabe von Abbildungen ist nur in Ausnahmefällen angängig.

Die Zeitschrift erscheint zur Ermöglichung raschester Veröffentlichung zwanglos in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstfalle DM 40.— für eine Arbeit. Für „Kurze Mitteilungen" wird ein Unkostenersatz nicht erstattet.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme, Mikrophotographien u. ä. von den Zeitschriftenheften, von einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit bis auf weiteres zusammen 75 Sonderdrucke unentgeltlich.

Aufnahmebedingungen siehe 3. Umschlagseite.

Alle Manuskripte und Anfragen sind zu richten an

Professor Dr. Leo Brauner, München 19, Menzingerstr. 67, Botanisches Institut der Universität, oder an

Professor Dr. Erwin Bünning, Tübingen, Botanisches Institut der Universität, Wilhelmstraße 5.

Springer-Verlag

Berlin W 35, Reichpietschufer 20, Fernsprecher 130131

und

Heidelberg, Neuenheimer Landstr. 28—30, Fernsprecher 27901

---

52. Band **Inhaltsverzeichnis** 1. Heft

Seite

SCHUMACHER, W., Zum 80. Geburtstag von Professor Dr. Dr. h. c. WILHELM RUHLAND am 7. August 1958 mit einem Porträt 1

MOSEBACH †, G., Zur Phototaxis von Mougeotia (Mesocarpus). Mit 16 Textabbildungen. Mit einem Nachwort von W. HAUPT 3

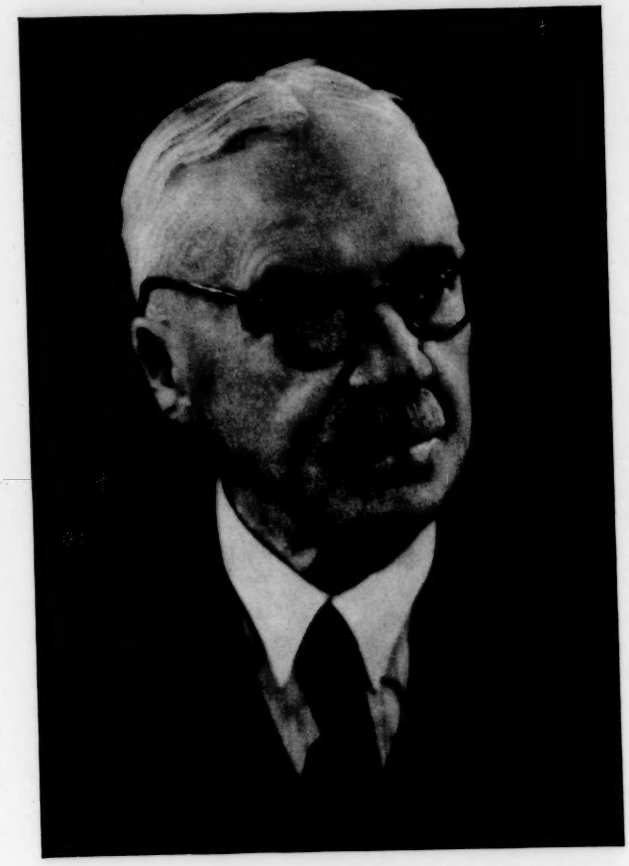
URBAN, R., Physiologische Untersuchungen über einige Flavonoide und Oxyzimtsäuren. I. Auswahl und Identifizierung der bearbeiteten Stoffkomponenten. Mit 12 Textabbildungen 47

HESS, D., Über die Papierchromatographie von Flechtenstoffen. Mit 2 Textabbildungen 65

SCHIEMANN, E., Beobachtungen an einem subfertilen Fragaria-Klon. Mit 17 Textabbildungen 77

GUTTENBERG, H. VON, und H. LEIKE, Untersuchungen über den Wuchs- und Hemmstoffgehalt ruhender und treibender Knospen von Syringa vulgaris L. Mit 7 Textabbildungen 96

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.



W. Ruhland.

Planta, Bd. 52 (1958)

Springer-Verlag,
Berlin · Göttingen · Heidelberg

Planta, Bd. 52, S. 1—2 (1958)

Zum 80. Geburtstag von Professor Dr. Dr. h. c. Wilhelm Ruhland am 7. August 1958

Hochverehrter Herr Professor Ruhland!

Zur Vollendung Ihres 80. Lebensjahres möchten es sich Herausgeber, Verlag, Mitarbeiter, Schüler und Freunde nicht nehmen lassen, Ihnen auch an dieser Stelle ihre aufrichtigsten Glückwünsche auszusprechen. Die Zeitschrift „Planta", die Sie im Jahre 1925 mit Hans Winkler begründet und seither ununterbrochen geleitet haben, hat vor kurzem ihren 50. Band überschritten. Auch wer die Fülle der in diesen 50 Bänden niedergelegten wissenschaftlichen Ergebnisse, unter denen auch manche Ihrer eigenen Feder entstammen, kennt, wird sich selten dessen richtig bewußt werden, welche persönliche Leistung des verantwortlichen Herausgebers sich hinter dem dauernd hohen Niveau dieser Zeitschrift verbirgt. Nicht jede Arbeit erscheint ja in der Planta, und nicht jeder Beitrag ist unbeeinflußt von Ihrem Rat und Ihrem sicheren Urteil darin abgedruckt worden. So steht diese stattliche Zahl von Bänden in unseren Bibliotheken als ein unvergängliches Dokument Ihrer Persönlichkeit und Ihres Wirkens für die Botanik. Und doch ist dies nur ein kleiner Teil dessen, was wir alle Ihnen zu verdanken haben.

Als vor 10 Jahren unter den schwierigsten politischen Verhältnissen Ihr 70. Geburtstag gefeiert und auch in dieser Zeitschrift kurz gewürdigt wurde, war es unser aller Wunsch daß Sie uns Jüngeren noch viele Jahre als „Helfer, Berater und Vorbild" zur Seite stehen möchten. Niemand von uns hätte damals zu hoffen gewagt, daß Sie weit darüber hinaus alle Ihre bisherigen Leistungen noch durch eine weitere überbieten würden: das große „Handbuch der Pflanzenphysiologie", dessen Konzeption zwar schon in die Vorkriegsjahre zurückreicht, dessen Verwirklichung aber durch den unseligen Krieg und seine Folgen fast unmöglich erscheinen mußte, ist dank Ihres dauernden unermüdlichen Einsatzes, aber auch dank

des internationalen Ansehens, dessen Sie sich überall erfreuen, Tatsache geworden. Die in rascher Folge erscheinenden Bände werden auf viele Jahre hinaus die wissenschaftliche Forschung in der ganzen Welt befruchten und für ihren Schöpfer zeugen. Einst schrieben Sie, daß Sie schwerlich den Abschluß dieses Monumentalwerkes erleben würden. Wir sind vom Gegenteil überzeugt! Und wir hoffen und wünschen, daß Sie nicht nur diese Krönung Ihres Lebenswerkes noch zu einem guten Ende führen werden, sondern daß Sie sich noch viele Jahre in bester Gesundheit und Leistungsfähigkeit der reichen Ernte Ihres Lebens erfreuen können.

In Bewunderung, Verehrung und Dankbarkeit namens des Verlages, der Mitarbeiter, Schüler und Freunde

Walter Schumacher

Planta, Bd. 52, S. 3—46 (1958)

Aus den Botanischen Anstalten der Schlesischen Friedrich Wilhelms-Universität zu Breslau

ZUR PHOTOTAXIS VON MOUGEOTIA (MESOCARPUS)*

Von

GEORG MOSEBACH †

Mit 16 Textabbildungen

(Eingegangen am 17. Juni 1944)

Mit einem Nachwort von W. HAUPT

Einleitung

Bei Studien über die Chloroplasten-Phototaxis der Fadenalge *Mougeotia* (AG.) WITTR. fand ich, daß nicht allein die *Lichtintensität* die Stellung ihres Chloroplasten bestimmt, sondern daß hierbei, bisher offenbar übersehen, eine sehr veränderliche *Lichtstimmung* ganz entscheidend mitspielt. Dies weiter zu verfolgen, schien mir wichtig genug. Denn wenn auch die einzige bisher genauer untersuchte Chloroplasten-Phototaxis, die des Mooses *Funaria*, in den Versuchen VOERKELS (1934) eine wechselnde Lichtstimmung nicht hat erkennen lassen, so darf man dennoch überzeugt sein, daß an jeder Chromatophoren-Phototaxis neben der Lichtintensität auch noch andere Faktoren maßgebend beteiligt sind; infolge irgendwelcher im Objekt liegender Ursachen treten sie vielleicht nicht klar hervor oder kommen bei starkem Überwiegen der gerade gebotenen Lichtintensität nicht zum Ausdruck.

Aber auch ohne einen allgemeinen Gesichtspunkt dieser Art war es wünschenswert, Näheres gerade über die Phototaxis der *Mougeotia* zu erfahren, da sie mehr als andere Objekte Einblick in die noch so rätselvolle Mechanik der Chloroplasten-Bewegung zu gewähren verspricht. Einstweilen sind nämlich nur wenige und zudem ausgesprochen qualitative Angaben über die Wirkung „hoher" und „mittlerer" Intensitäten auf *Mougeotia* bekannt. Es heißt, in intensivem Licht nähme der

* Vor seinem letzten Abschied legte mir mein Mann die Manuskripte zweier Arbeiten in die Hand mit der Bitte, wenn nötig, statt seiner für ihre Veröffentlichung zu sorgen. Die erste Arbeit („Über die Polarisierung der *Equisetum*-Spore durch das Licht", Planta **33**, 1943) war so gut wie druckfertig. Die zweite, hier vorliegende Arbeit war von GEORG MOSEBACH in dieser Fassung noch nicht für die Veröffentlichung bestimmt; trotzdem ist sie nun doch in der ursprünglichen Form erschienen — abgesehen von wenigen oder unbedeutenden Änderungen, die Herr Professor BUDER und Herr Professor RUHLAND, Leipzig, die Güte hatten vorzunehmen. Herrn Professor Dr. J. BUDER und Herrn Professor Dr. W. RUHLAND spreche ich auch an dieser Stelle meinen Dank aus für alle selbstlose Hilfe, die mir bei meiner Aufgabe zuteil wurde. ERNA MOSEBACH, 1944.

Mougeotia-Chloroplast Profilstellung ein, in Licht mittlerer Intensität dagegen Flächenstellung und in einem dazwischenliegenden Intensitätsbereich eine zum einfallenden Licht schräge Lage.

Recht verschiedene Gründe bewogen mich also zu der nunmehr vorliegenden Arbeit, die das Verhalten des *Mougeotia*-Chloroplasten in Dauerlicht verschiedener Intensitäten untersucht. Im Vordergrund standen dabei zunächst die beiden Fragen: 1. Welche Faktoren bedingen hier die offenbar sehr veränderliche Lage des Umschlagpunktes? 2. In welchem Ausmaß ändern sie die Stimmung? Da ich hierbei mit genau bestimmten Beleuchtungsstärken arbeitete, dienen die Untersuchungen einer ersten quantitativen Klärung der *Mougeotia*-Phototaxis überhaupt. Nicht zuletzt erweitern sie dadurch aber auch unsere noch sehr am Anfang stehende Kenntnis der Lichtstimmung phototaktisch reagierender Organismen schlechthin.

I. Methodik

1. Vorbemerkung

Zunächst ein Wort über den *Umschlagspunkt*. Man versteht darunter ganz allgemein einen Punkt in einem Intensitätsbereich, der ein Gebiet positiver Reaktion von einem Gebiet negativer Reaktion trennt. Dabei wird es sich freilich nie streng um einen „Punkt" handeln, da stets eine indifferente Zone vorliegen wird, die, je nach Objekt und je nach dessen physiologischem Zustand, eine größere oder kleinere Ausdehnung besitzt. Wenn ich nun im folgenden, in bewußtem Gegensatz zu anders lautenden Literaturangaben verschiedener Autoren und einstweilen ohne Beweis, annehme, die *Mougeotia*-Chromatophoren könnten nur positiv und negativ phototaktisch reagieren, hiermit also annehme, daß die Chlorophyllplatte als Endergebnis einer phototaktischen Einstellung *nur* Flächenstellung (positive Reaktion) oder Profilstellung (negative Reaktion) einnehmen kann, dann müssen die Bereiche dieser beiden Reaktionsweisen aus theoretischen Gründen durch eine Indifferenzzone getrennt sein, in der die Zelle weder positiv noch negativ reagiert. Da ich aber nicht angeben kann, wie breit diese Indifferenzzone ist, verstehe ich unter dem *Umschlagspunkt die obere Grenze der Indifferenzzone*, also die schwächste Lichtintensität, die gerade eben Profilstellung herbeiführt.

Den Begriff „*Umstimmung*" verwende ich im Sinne von OLTMANNS (1917) und BUDER (1917) zur Bezeichnung einer *Verschiebung des Umschlagspunktes*. Da diese Verschiebung ein recht verschiedenes Ausmaß haben kann, braucht eine Umstimmung auch bei *Mougeotia* nicht notwendig sogleich eine Reaktionsumkehr zur Folge zu haben. Das tritt vielmehr nur dann ein, wenn der Umschlagspunkt so stark verschoben wird, daß er mindestens in die bei der Beobachtung gerade gebotene Lichtintensität einrückt. Es erhebt sich damit die Frage, ob bei *Mougeotia*

eine Umstimmung geringeren Grades überhaupt zu erkennen ist. Die Antwort ist leicht gefunden. Würde man jeweils nur mit *einer einzigen Zelle* experimentieren, so wäre es allerdings meistens unmöglich, eine Umstimmung geringeren Grades zu erkennen, weil der Chloroplast bei jeder zur Reaktionsumkehr nicht ausreichenden Stimmungsänderung seine Lage trotz der Umstimmung unverändert beibehielte. Anders liegen die Dinge dagegen, wenn man das Verhalten *einer sehr großen Anzahl von Zellen* als Kriterium verwendet, d. h., wenn man den Gang der Stimmung an einer vielfädigen Locke verfolgt. Denn hier läßt sich der Umstand nutzen, daß niemals alle Zellen einer vielfädigen Locke völlig gleich gestimmt sind. Wenn nämlich die gebotene Lichtintensität mit dem Umschlagspunkt nur eines Teiles der Zellen zusammentrifft, die Intensität also so gewählt ist, daß sie nur bei einem Teil der Zellen Profilstellung herbeiführt, dann gibt jede Änderung dieses Prozentsatzes, gleichbleibende Beleuchtung freilich vorausgesetzt, eine Umstimmung des Materials zu erkennen. In *solchen* Intensitätslagen also, in denen nicht sogleich sämtliche Zellen einer *Mougeotia*-Locke negativ reagieren, tritt eine Umstimmung sofort klar hervor. Wenn dagegen die gebotene Lichtintensität weit über dem ursprünglichen Umschlagspunkt liegt, so daß in sämtlichen Zellen Profilstellung eintritt, dann kann ein Fallen des Umschlagspunktes schon gar nicht und ein Steigen nur dann zum Ausdruck kommen, wenn der Umschlagspunkt tatsächlich bis zur Höhe der gebotenen Intensität aufrückt. Freilich wird es auch im letzten Falle einige Zellen geben, die wegen ihres von Anfang an besonders hoch liegenden Umschlagspunktes früher als die anderen ihr Vorzeichen wechseln und dadurch eine Höherstimmung des Materials anzeigen. Doch ist es alsdann gänzlich ungewiß, ob nicht selbst diese Vorläufer schon eine starke Umstimmung hinter sich haben. Das Verfahren ist demnach in allen solchen Fällen fast ebenso unzuverlässig wie bei Beobachtung einer einzelnen Zelle. Man wird also, gilt es, eine Umstimmung zu erfassen, grundsätzlich alle Intensitäten meiden, die von vornherein in sämtlichen Zellen eine negative Reaktion herbeiführen.

2. Lichtquelle

Zur genauen Festlegung des Umschlagspunktes sind starke und vor allem konstant brennende Lampen erforderlich, wie sie den früheren Bearbeitern der *Mougeotia*-Phototaxis (Literatur bei SENN, 1908) noch nicht zur Verfügung standen. Ich verwendete Osram-Projektionslampen von 250 Watt/220 Volt, Type A. Ihre Helligkeit wurde mittels eines Lummer-Brodhunschen Photometerkopfes photometriert, also visuell bestimmt. Mit dieser Lampe lassen sich selbst dann noch Beleuchtungsstärken bis zu 40000 Lux erzielen, wenn zur Absorption von Wärmestrahlung, wie es hier erforderlich war, zwischen Lampe und Alge eine Kühlcuvette eingeschoben werden muß. Als solche benutzte ich die bekannte Zeisssche Porzellancuvette für Projektionszwecke (5 cm Schichtdicke), die zur Vermeidung der sonst hier bis zum Kochen gehenden Erwärmung unmittelbar an die Wasserleitung

angeschlossen und durch kräftige Durchspülung gekühlt wurde. Zwischen der Cuvette und der bis auf etwa 2 mm genäherten Lampe befand sich eine Blende aus Asbest, die so geschnitten war, daß die innere Porzellanfläche der Cuvette nicht unmittelbar von den in die Cuvette eintretenden Strahlen getroffen wurde. Die Lampe brannte bei einer stets gleichen Unterspannung; in der Regel hielt ich die Spannung unter dauernder Kontrolle mittels eines Potentiometers auf 215 Volt. Während der Versuche traten also keine ins Gewicht fallenden Helligkeitsschwankungen ein.

Ich arbeitete nur mit *Weißlicht*, da sich die zu untersuchenden Fragen auch mit diesem einfach zu handhabenden Reizmittel befriedigend lösen ließen. Zudem sind die damit angestellten Versuche auch ohne genaue Kenntnis der spektralen Zusammensetzung des von mir verwendeten Lichtes jederzeit reproduzierbar, wenn man als Lichtquelle jene Osram-Lampe oder eine dieser entsprechende benutzt. Es sei deshalb auch hervorgehoben, daß gerade die Versuche des Abschnittes VII sämtlich mit dem gleichen Lampenindividuum durchgeführt worden sind. Sie können daher auch in spektraler Hinsicht ohne Vorbehalt miteinander verglichen werden.

3. Material

Ich verwendete eine *Mougeotia* (Durchmesser des Zellcylinders etwa 10—12μ), die in einem Gewächshaus der Breslauer Botanischen Anstalten in einer eisernen Wassertonne wuchs, aus der täglich zum Gießen geschöpft wurde. Die Alge kam dort früher nur spärlich vor, gedieh hier aber neuerdings in reinen üppigen Watten und war auch die Sommermonate über jederzeit reichlich zu haben. Die Species habe ich nicht bestimmen können, da Zygosporen bisher nicht aufgetreten sind. Es kommt hierauf aber auch weniger an, zumal eine andere feinerfädige Art, die gelegentlich mit wenigen Fäden die Watten durchzog, sich ähnlich verhielt. Wenn nichts anderes bemerkt ist, habe ich mit Sommermaterial gearbeitet, d. h. mit Material der Monate April bis September.

4. Präparate

Einen großen Teil der Versuche führte ich mit einfachen Objektträger-Präparaten aus. Ich habe hierzu jeweils eine zarte *Mougeotia*-Locke in einem Tropfen des Kübelwassers (Breslauer Leitungswasser) auf einen Objektträger gebracht, ein Deckglas ohne besonderes Stützen vorsichtig unmittelbar aufgelegt und das Präparat, nicht zuletzt um Austrocknung zu verhindern, mit einem passenden Gemisch aus Vaseline und Paraffin umrandet. In einem solchen abgeschlossenen Präparat, in dem die Algenfäden hinreichend ruhig lagen, blieb die von mir verwendete *Mougeotia* nicht nur tagelang am Leben, sondern auch reaktionsfähig. Trotzdem habe ich derartige Präparate zu quantitativen Untersuchungen stets nur frisch und kurzfristig benutzt.

5. Meßverfahren

Es war zu hoffen, daß sich der Umschlagspunkt durch Variieren des Abstandes zwischen Lampe und Präparat leicht ermitteln ließe. Allerdings bin ich nun nicht etwa so vorgegangen, daß ich ein und dasselbe Präparat solange auf die Lampe zu verschob, bis schließlich im gesuchten Abstand in 100% der Zellen Profilstellung eingetreten war. Ich stellte vielmehr zu einer jeden Bestimmung eine größere Anzahl frischer Präparate in verschiedener Entfernung *fest* vor der Lampe auf und prüfte sie von Zeit zu Zeit auf die Stellung der Platten. Beim Beleuchten wurde sorgsam darauf geachtet, daß sich die Präparate nicht gegenseitig beschatteten. Denn selbst wenn zwischen Lampe und Alge auch nur ein leerer Objektträger gestanden hätte, so wäre allein durch Reflexion an dessen spiegelnden Flächen ein

Lichtverlust von etwa 8% entstanden. Um dennoch mehrere (bis zu 12) Präparate gleichzeitig und mit derselben Lichtquelle beleuchten zu können, habe ich nur ein Präparat genau in der Verlängerung der Lampenachse aufgestellt, die anderen dagegen in geeignetem, aber knappem Abstand links und rechts sowie oberhalb und unterhalb dieser Achse, wie das ähnlich die Abb. 3 für Präparate anderer Art darstellt.

6. Ablesung

Die jeweils herbeigeführte Reaktion habe ich unmittelbar nach dem Versuch mikroskopisch abgelesen, bei längerer Versuchsdauer auch zwischendurch in kurzen Abständen. Um im letzten Fall den Gang der phototaktischen Reaktion nicht ernstlich zu stören, habe ich auch zu nur kurzem Ablesen helles rotes oder schwaches weißes Licht verwendet. Profilstellung hätte hierbei, auch bei noch so langer Beleuchtung, niemals eintreten können. Die Anzahl der jeweils profilstehenden Platten wurde geschätzt.

7. Profilwert

Die Anzahl der profilstehenden Platten wird in Prozenten der jeweils überhaupt vorhandenen angegeben. *Den Hundertsatz profilstehender Platten eines einzelnen Fadens, eines Lockenteiles oder des gesamten Präparates nenne ich dessen „Profilwert“.* Beträgt dieser 100, dann zeigten sich alle Platten ohne Ausnahme von der Kante; beträgt er z. B. 60, dann zeigten 60% der Platten scharfe Profilstellung. Eine Umstimmung ist nun leicht am Profilwert zu erkennen. Denn ändert sich ein zunächst festgestellter Profilwert bei gleichbleibender Helligkeit oder kommt es unter einer ungleichen Bedingung zu verschiedenen Profilwerten bei Versuch und Kontrolle, dann ist eine Umstimmung die Ursache. Hierbei ist eine Umstimmung nach dem eingangs Gesagten nur an Profilwerten unter 100 sicher zu erkennen.

II. Beleuchtungsstärke und Profilwert

Eine Profilstellung *aller* Platten eines mit Breslauer Leitungswasser angesetzten Präparates, also *ein Profilwert von 100%, zeigte sich bei soeben eingetragenem Material im Sommer gewöhnlich erst bei Intensitäten von etwa 20000 Lux oder darüber.* Freilich stellte sich ein kleinerer Hundertsatz stets schon bei geringeren Intensitäten ein. Es sind ja nicht immer alle Zellen eines *Mougeotia*-Fadens gleichgestimmt, geschweige denn alle Zellen einer vielfädigen Locke; können doch selbst in ein und derselben Zelle polare Empfindlichkeitsunterschiede vorhanden sein. Der Profilwert muß daher eine gewisse *Streuung* aufweisen. Wie groß diese sein kann, geht aus Abb. 1 hervor, die als Beispiel für viele Versuche einen dieser wiedergibt, in dem gleichzeitig 12 Präparate einer verschieden starken Beleuchtung ausgesetzt waren.

Zunächst schildere ich anhand der Abb. 1, Kurve I, die Verhältnisse nach einer 30minutigen Beleuchtung. Zu diesem Zeitpunkt zeigten alle Präparate, die 12000 und weniger Lux ausgesetzt waren, in sämtlichen

Zellen saubere Flächenstellung, 13700 Lux indessen hatten schon 5% Profile hervorgerufen, 15750 Lux bereits gegen 10%, 16700 Lux rund 20% usf. Im Hinblick auf die hierdurch gekennzeichnete Streuung meines Materials überrascht also Abb. 1 nicht weiter. Da die Beleuchtung jedoch noch über die 30. Minute hinaus ausgedehnt wurde, konnte eine neue und bemerkenswerte Beziehung gefunden werden.

III. Beleuchtungdauer und Umschlagspunkt

Da bei *Mougeotia* auch mit träge reagierenden Zellen zu rechnen ist, hätte man erwarten sollen, daß der Profilwert bei einer über die 30. Minute

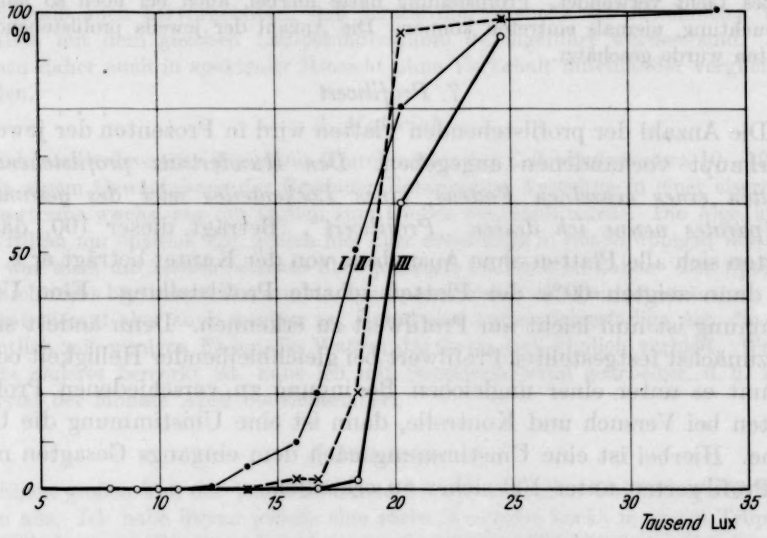


Abb. 1. *Mougeotia*. Profilwerte in 12 verschiedenen Intensitätslagen bei Dauerbeleuchtung. *I*: nach 30 min, *II*: nach 90 min, *III*: nach 120 min. Versuch 163

hinausgehenden Beleuchtung noch etwas steigt. Indessen ging der Profilwert, wie aus Abb. 1 hervorgeht, auch in den höheren Intensitätslagen mit zunehmender Beleuchtungsdauer überall deutlich zurück. Nach insgesamt 120 min (s. Kurve III) waren sogar so viele Profile wieder verschwunden, daß z. B. bei 16700 Lux, die anfangs (s. Kurve I) 20% Profile herbeigeführt hatten, keine einzige Profilstellung mehr vorhanden war. Diesem Rückgang kommt um so mehr Gewicht zu, als der Profilwert während der insgesamt 2stündigen Beleuchtung sogar bei 24800 Lux gesunken war, nämlich von 100 auf 95%. Daraus geht eindeutig hervor, daß *sich der Umschlagspunkt bei Mougeotia schon während einer verhältnismäßig kurzen Beleuchtung nach höheren Intensitäten zu verschieben kann.*

Diese sowohl an sich wie ihrer Richtung nach bemerkenswerte Stimmungsänderung, deren Bedeutung erst in späteren Abschnitten erörtert werden kann, wirft zunächst die Frage auf, ob hier eine längere

Beleuchtung mit hohen Intensitäten oder gar eine jede längere Beleuchtung *unmittelbar* höher stimmt, d. h., ob eine *Adaptation* vorliegt, oder aber, ob die Bestrahlung nur *mittelbar* wirkt, etwa durch eine Änderung der Temperatur oder einfach durch die Änderung der Gasverhältnisse, wie sie in den ja abgeschlossenen Präparaten durch die Assimilation unzweifelhaft in kurzer Zeit eintritt. In dieser letzten Richtung glaubte ich von vornherein um so mehr suchen zu müssen, als auch das Verhalten nach Vorbeleuchtung mit verschiedenen Intensitäten zunächst auf eine nur rein mittelbare Lichtwirkung hinzuweisen schien.

IV. Vorbeleuchtung und Umschlagspunkt

Versuche mit verschiedener Vorbeleuchtung führten zu dem überraschenden Ergebnis, daß *der Umschlagspunkt bei einem zuvor dunkel gehaltenen Präparate nach niederen Intensitäten zu verschoben ist.*

Welche großen Unterschiede in der Reaktion dunkel gehaltener und vorbeleuchteter Präparate auftreten können, mag ein Versuch veranschaulichen, in dem 4 Präparate zunächst 30 min lang einer jeweils verschiedenen Helligkeit ausgesetzt wurden, was zu den in Tabelle 1, Spalte I, eingetragenen Profilwerten führte. Alsdann wurden diese 4 Präparate 15 Std lang dunkel gestellt und daraufhin abermals der gleichen Beleuchtung ausgesetzt. *Nunmehr lag der Umschlagspunkt in den gleichen Präparaten wesentlich tiefer als zuvor* (s. Spalte II der Tabelle 1). Denn während beispielsweise 18 500 Lux · 30 min in dem frischen Präparat Nr. 15 nur 20% Profile hervorriefen, kam es nach 15stündiger Verdunkelung bereits bei nur 14 100 Lux · 30 min. (Präparat 16) bei 95% der Zellen zur Profilstellung. Es lag also die Intensität, die in *allen* Zellen zur negativen Reaktion führt, alsdann knapp oberhalb 14 100 Lux, während hierzu für die gleichen Präparate *vor* der Verdunkelung eine Beleuchtung von weit mehr als 18 500 Lux erforderlich war.

Tabelle 1. *Mougeotia. Profilwerte in verschiedenen Intensitätslagen bei $^1/_2$stündiger Beleuchtung.* I: Reaktion der soeben hergestellten Präparate; II: Reaktion der gleichen, inzwischen jedoch 15 Std dunkel gestellten Präparate bei erneuter Beleuchtung. Versuch 47

Präparat Nr.	Beleuchtung	I Reaktion des frischen Präparates	II Reaktion des dunkelgestellten Präparates
15	18 500 Lux · 30 min	20% Profile	100% Profile
14	16 560 „ „	0% „	100% „
16	14 100 „ „	0% „	95% „
17	11 900 „ „	0% „	2% „

Offenbar sinkt also oder steigt die Empfindlichkeit der Mougeotia je nachdem, ob im umgebenden Medium eine CO_2-Verarmung eintritt (wie in beleuchteten Präparaten) *oder eine CO_2-Anreicherung* (wie infolge der Atmung in dunkelstehenden Präparaten); es sei denn, die sich in den Präparaten ja ändernde O_2-Spannung verschöbe den Umschlagspunkt, oder es läge eine Hell- bzw. Dunkeladaptation des Materials vor, wenn

nicht gar ein Zusammenspiel aller dieser Faktoren. Beobachtungen und Versuche der nächsten Abschnitte bringen darüber Klarheit.

V. Randeffekt

Wenn es zuträfe, daß gerade die Gasverhältnisse die Stimmung in dem angenommenen Sinne beeinflußten, dann würde das einige auffällige Beobachtungen erklären, die man beim Arbeiten mit *Mougeotia* immer wieder machen kann. Wenn nämlich in einem Präparat mehrere *Mougeotia*-Fäden dicht beieinanderliegen — und das ist selbst bei Verwendung feinster Locken stets der Fall —, so sind die peripher liegenden Fäden in der Regel in anderer Stimmung als die zentral liegenden. Das geht daraus hervor, daß der Profilwert bei nicht allzu intensiver Beleuchtung — ich nenne sie eine „kritische" Beleuchtung — alsdann im Zentrum einer Locke gewöhnlich anders ist als peripher, ein Gegensatz, den ich ohne Rücksicht auf sein Vorzeichen als „*Randeffekt*" bezeichne. Der Randeffekt erhält eine erhöhte Bedeutung dadurch, daß sich vorbeleuchtete Präparate hierin gerade umgekehrt verhalten wie Präparate, die einige Zeit dunkel gestanden haben.

1. Randeffekt nach Vorbeleuchtung

In vorbeleuchteten Präparaten, etwa solchen, die mit zunächst 3000 Lux · 9 Std beleuchtet worden sind, kommt es im „kritischen" Intensitätsbereich, also bei nicht zu intensiver Beleuchtung, *an der Peripherie der Locke eher zur Profilstellung* als im Zentrum *oder überhaupt nur peripher.*

2. Randeffekt nach Dunkelheit

Haben Präparate längere Zeit dunkel gestanden, z. B. 9 Std, so kommt es auf ausreichende Beleuchtung hin unverzüglich zur Profilstellung der Platten. Diese tritt jedoch im kritischen Intensitätsbereich höchst auffällig *gerade im Zentrum der Locke eher oder einheitlicher* auf als an der Peripherie oder stellt sich gar überhaupt nur zentral ein. Es kann dabei der aufschlußreiche Fall eintreten, daß ein Faden, wenn er sich zufällig durch einen oder mehrere Fadenknäuel hindurchschlingt, selbst wenn diese aus nur wenigen Fäden oder Fadenstücken bestehen, abschnittsweise positiv und negativ reagiert. Abb. 2 zeigt einen solchen Faden, der teilweise Flächenstellung aufweist; dies aber nur in seinen beiden freien Abschnitten II und IV, in denen 40 bzw. 22 aufeinanderfolgende Zellen positiv reagierten. Dagegen befanden sich in den drei übrigen durch je ein Fadengeflecht hindurchgehenden Abschnitten nur Zellen mit sauberer Profilstellung der Platten; und zwar waren es in den Abschnitten V und III 27 bzw. 10 negative Zellen und im Abschnitt I 28+8 negative Zellen, die durch eine einzige Zelle getrennt waren.

3. Randeffekt bei Dauerbeleuchtung

Wählt man wiederum eine Beleuchtung, die gerade eben auch noch peripher Profile hervorruft, dann ist nach einiger Zeit ein zweites unterschiedliches Verhalten von Zentrum und Peripherie zu beobachten: es halten sich die alsdann überall erzeugten Profile im Zentrum länger als an der Peripherie. So erhielt ich z. B. (in Versuch 61) an drei zuvor dunkel gehaltenen Präparaten folgendes Ergebnis: Bei 23400 und 19200 Lux trat anfangs in allen Zellen Profilstellung ein. Nach 4stündiger Beleuchtung hingegen waren nur noch im Zentrum Profile vorhanden, nicht

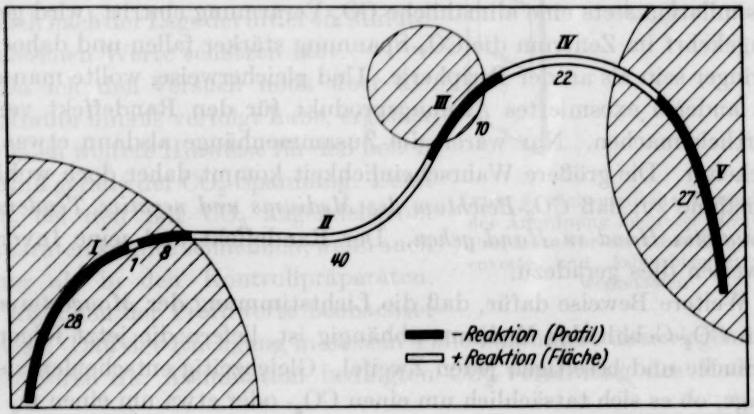


Abb. 2. *Mougeotia*. Ein abschnittsweise negativ und positiv reagierender Faden. Positive Reaktion (→ Flächenstellung) nur außerhalb des Bereiches der kleinen Locken! Schraffiert: Bereich einer Locke; *I*—*V*: die 5 Abschnitte des Fadens; die arabischen Ziffern: Anzahl der Zellen des jeweiligen Abschnittes. Versuch 63

mehr dagegen peripher! In nur 9500 Lux freilich, in denen es fast ausschließlich im Zentrum zur Profilstellung gekommen war, war auch hier nach weiterer 2stündiger Beleuchtung saubere Flächenstellung eingetreten. Auch Abb. 2 stellt einen solchen Fall dar: Anfangs hatte der 28800 Lux ausgesetzte Faden einen Profilwert von 100%, nach 2stündiger Beleuchtung bot sich das oben schon beschriebene Bild.

4. Folgerungen

Es mag zunächst überraschen, daß in dem einen Fall (nach Verdunkelung) nur das Zentrum im kritischen Intensitätsbereich negativ reagiert, in dem anderen Falle dagegen (nach Vorbeleuchtung) nur die Peripherie. Dieser Gegensatz ließe sich jedoch zwanglos z. B. dadurch erklären, daß man ihn auf die in den Präparaten ohne Zweifel sich ändernden Gasverhältnisse zurückführt, zumal ein unterschiedliches Verhalten von Peripherie und Zentrum ohnehin nicht durch Adaptationsvorgänge bewirkt werden kann. Müssen doch in abgeschlossenen

Präparaten, die zentral eine *Mougeotia*-Locke enthalten, am Licht wie im Dunkeln radiäre Gefälle in der CO_2- und O_2-Spannung auftreten. Diese werden, je nachdem, ob die Alge dunkel oder hell steht, entweder von innen nach außen verlaufen oder umgekehrt. Die CO_2-Spannung, die aus noch zu erörternden Gründen allein besprochen sei, wird also bei *dunkel stehenden Präparaten* dort, wo die meisten Fäden sind, d. h. im Zentrum der Locke, infolge der Atmung der Zellen stärker steigen als an der Peripherie. Das würde somit verständlich machen, daß hier bei Beleuchtung gerade im Zentrum die einzigen oder die meisten Profile auftreten. Bei *vorbeleuchteten Präparaten* hingegen, in denen infolge der Assimilation stets eine allmähliche CO_2-Verarmung eintritt, wird gerade umgekehrt im Zentrum die CO_2-Spannung stärker fallen und daher hier geringer sein als an der Peripherie. Und gleicherweise, wollte man etwa ein anderes exosmiertes Atmungsprodukt für den Randeffekt verantwortlich machen. Nur wären die Zusammenhänge alsdann etwas verwickelter. Die größere Wahrscheinlichkeit kommt daher doch wohl der Annahme zu, daß *CO_2-Reichtum des Mediums und negative Tendenz bei Mougeotia Hand in Hand gehen.* Der Randeffekt und seine Inversion beweisen dies geradezu.

Weitere Beweise dafür, daß die Lichtstimmung der *Mougeotia* stark vom CO_2-Gehalt des Mediums abhängig ist, liefern die jetzt folgenden Versuche und beseitigen jeden Zweifel. Gleichzeitig entscheiden sie die Frage, ob es sich tatsächlich um einen CO_2- oder etwa um einen O_2-Einfluß handelt.

VI. Umschlagspunkt bei CO_2-Zusatz

Um zu prüfen, wie sich *Mougeotia* in einem Medium verhält, dessen CO_2-Gehalt künstlich erhöht wird, habe ich frisch geschöpftes Kübelwasser stark mit CO_2 angereichert.

In dem so angesäuerten Wasser, das ein p_H von 5,7 hatte, wurde die Alge zunächst kurz gebadet, damit die Algenfäden im Präparat wenigstens anfangs auch wirklich allseits und gleichmäßig von CO_2-reichem Wasser umgeben waren. Je eines dieser Präparate habe ich jeweils zusammen mit einem Kontrollpräparat, das einige *Mougeotia*-Fäden in unbehandeltem Kübelwasser (p_H 7) enthielt, auf dem gleichen Objektträger untergebracht. Damit war erreicht, daß Versuch und Kontrolle jeweils wirklich gleichen Intensitäten ausgesetzt waren. Mehrere solcher Doppelpräparate habe ich alsdann wieder in verschiedenem Abstand und unter Vermeidung gegenseitiger Beschattung vor der gleichen Lampe aufgestellt (Abb. 3).

Abb. 4 zeigt das Ergebnis eines solchen Versuches mit fünf der soeben beschriebenen Doppelpräparate, die Beleuchtungsstärken von 4400, 6400, 9200, 13800 und 20400 Lux ausgesetzt waren. Die Unterschiede zwischen den angesäuerten Präparaten und den Kontrollen sind verblüffend. Während z. B. nach 6400 Lux · 15 min in sämtlichen Zellen des CO_2-armen Präparates eindeutige Flächenstellung eingetreten war, reagierten im CO_2-reichen Präparat zum gleichen Zeitpunkt 50% der Zellen negativ.

Damit war aber in der Intensitätslage von 6400 Lux noch keineswegs das Maximum an Profilen erreicht. Der Profilwert stieg vielmehr in diesem Präparat bis zur 45. Minute auf volle 70%. Und selbst die verhältnismäßig niedere Intensität von 4400 Lux führte bis zur 45. Minute bei einem CO_2-Präparat zu einem Profilwert von etwa 30%. Bei der CO_2-armen Kontrolle indessen waren für den gleichen Hundertsatz etwa 16000 Lux · 45 min erforderlich, wie sich nach der Lage der in der 45. Minute abgelesenen Werte schätzen läßt.

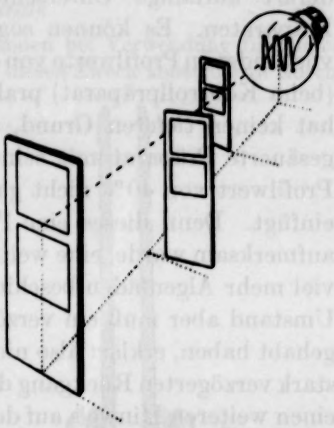


Abb. 3. Schematische Darstellung der Anordnung mehrerer (Doppel-) Präparate vor einer Lampe. Kühlcuvette und Asbestblenden sind weggelassen

Da ich den Versuch noch über die 45. Minute hinaus verfolgt habe, ergaben sich noch weitere Hinweise für den hohen Einfluß gerade der CO_2-Spannung. Denn auch bei den mit CO_2 angereicherten Präparaten konnte schließlich, wenn auch später als in den Kontrollpräparaten, ein Absinken der Profilwerte beobachtet werden. Daß der Rückgang in diesem Falle zumindest überwiegend auf einer durch die Assimilation bedingten CO_2-Verarmung des Mediums

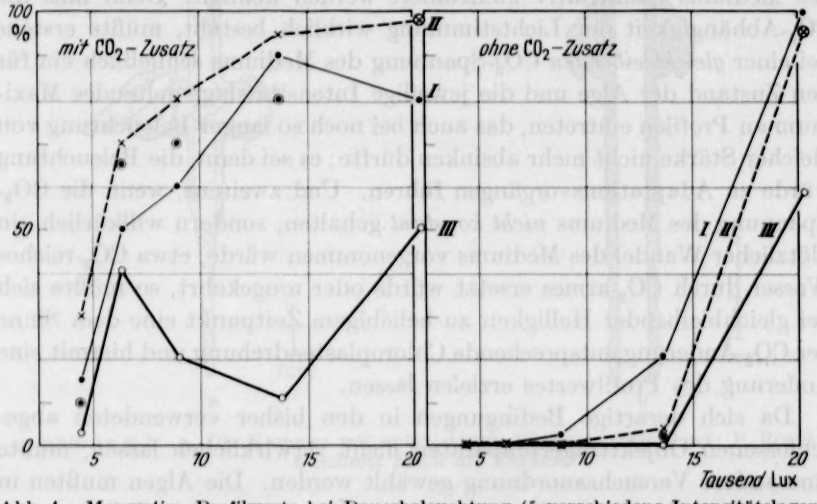


Abb. 4. *Mougeotia*. Profilwerte bei Dauerbeleuchtung (5 verschiedene Intensitätslagen); nach 15 min (*I*), 45 min (*II*), 75 min (⊙) und 135 min (*III*). Medium: *links:* mit CO_2 angereichertes Leitungswasser, *rechts:* abgestandenes Leitungswasser. Versuch 162

beruht, darf schon jetzt mit vollem Recht gefolgert werden. Die Profilwerte sanken sogar verhältnismäßig rasch, wohl weitgehend Hand in

Hand mit dem Schwinden der zusätzlich gebotenen Kohlensäure. Es bestehen daher nach 2stündiger Beleuchtung bei weitem nicht mehr derart auffällige Unterschiede zwischen den jeweils vergleichbaren Präparaten. Es können sogar die bei 20400 Lux in der 135. Minute vorhandenen Profilwerte von 50% (beim angesäuerten Präparat) und 60% (beim Kontrollpräparat) praktisch als gleich angesehen werden. Und es hat keinen tieferen Grund, daß sich das nur 6400 Lux ausgesetzte angesäuerte Präparat mit seinem in der 135. Minute noch überaus hohen Profilwert von 40% nicht ganz in das Verhalten der anderen Präparate einfügt. Denn dieses eine Präparat barg, worauf ich erst nachträglich aufmerksam wurde, eine weit schmächtigere *Mougeotia*-Locke als die mit viel mehr Algenfäden beschickten anderen Präparate. Dieser besondere Umstand aber muß ein verzögertes Sinken der CO_2-Spannung zur Folge gehabt haben, erklärt also nicht nur vollauf den in diesem Ausnahmefall stark verzögerten Rückgang der Profile, sondern gibt gerade dadurch noch einen weiteren Hinweis auf den hohen Einfluß der Kohlensäurespannung.

Es steht somit fest, daß der Umschlagspunkt bei Mougeotia um so tiefer liegt, je höher die CO_2-Spannung des Mediums ist.

Wenn es jetzt auch kaum noch eines weiteren Beweises bedurft hätte, daß dieser Schluß richtig ist, so bin ich trotzdem noch von einer anderen Seite her an diese bemerkenswerte Beziehung herangegangen. *Gewißheit* mußten nämlich solche Versuche bringen, in denen die Gasverhältnisse des Mediums quantitativ kontrolliert werden können. Denn falls die CO_2-Abhängigkeit der Lichtstimmung wirklich besteht, müßte erstens bei einer *gleichbleibenden* CO_2-Spannung des Mediums schließlich ein für den Zustand der Alge und die jeweilige Intensitätslage geltendes Maximum an Profilen eintreten, das auch bei noch so langer Beleuchtung von gleicher Stärke nicht mehr absinken dürfte; es sei denn, die Beleuchtung würde zu Adaptationsvorgängen führen. Und zweitens, wenn die CO_2-Spannung des Mediums *nicht konstant* gehalten, sondern willkürlich ein plötzlicher Wandel des Mediums vorgenommen würde, etwa CO_2-reiches Wasser durch CO_2-armes ersetzt würde oder umgekehrt, so müßte sich bei gleichbleibender Helligkeit zu beliebigem Zeitpunkt eine dem Sinne der CO_2-Änderung entsprechende Chloroplastendrehung und hiermit eine Änderung des Profilwertes erzielen lassen.

Da sich derartige Bedingungen in den bisher verwendeten abgeschlossenen Objektträgerpräparaten nicht verwirklichen lassen, mußte eine andere Versuchsanordnung gewählt werden. Die Algen mußten in strömendem Wasser von bestimmtem und konstantem CO_2-Gehalt untersucht werden. Ferner war, wenn möglich, der Einfluß der Kohlensäure quantitativ zu erfassen. Dabei mußte sich auch herausstellen, ob und inwieweit sich Adaptationsvorgänge am Sinken und Steigen der erhaltenen Kurven beteiligen.

VII. Verhalten in strömendem Wasser

A. Technische Angaben

1. Kammerpräparate

Um untersuchen zu können, wie die Reaktionen bei Verwendung fließenden Wassers ausfallen, benutzte ich kleine, eigens für diesen Zweck konstruierte Durch-

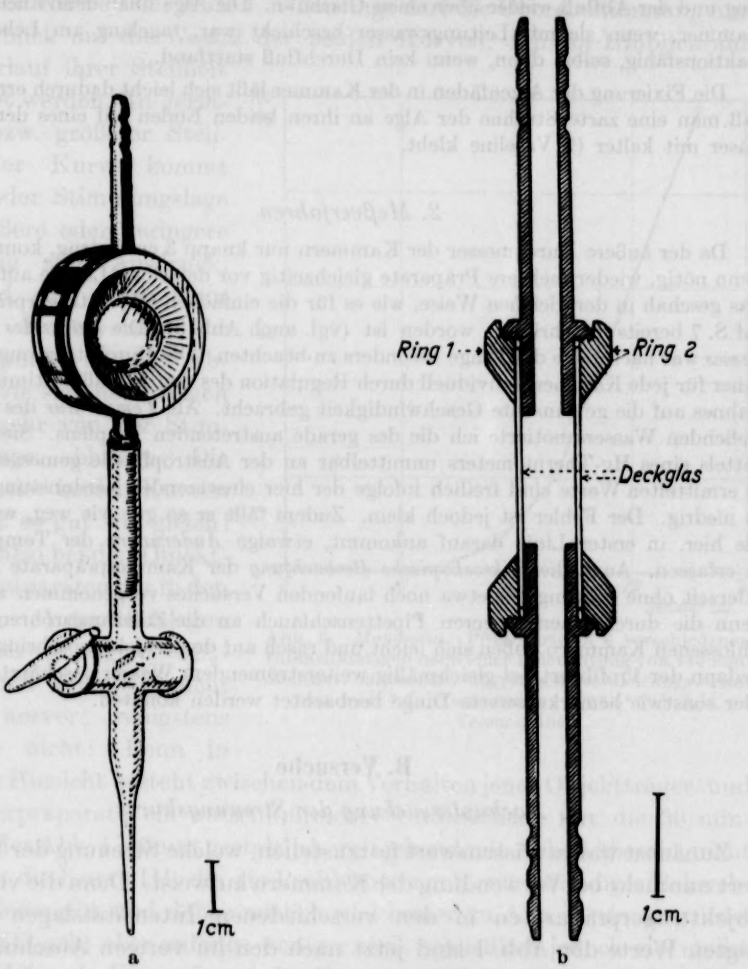


Abb. 5 a u. b. a Die Kammer mit aufgesetztem Glashahn (gezeichnet: P. Rose); b Schnitt durch die Kammer

strömungskammern (Abb. 5). Die sehr handliche Kammer besteht aus einem ringförmigen Mittelstück, das an zwei gegenüberliegenden Punkten für den Durchfluß durchbohrt ist und hier die beiden Ansatzstutzen für den Zu- und Abfluß trägt. In dieses Mittelstück, die eigentliche Kammer, sind zwei Ringe einzuschrauben, deren jeder ein Deckglas an das Mittelstück zu pressen und so die Kammer zu verschließen hat. Eine Spur von Vaseline (ich verwendete weiße Vaseline) zwischen Deckglas

und Mittelstück stellt bereits eine vollkommene Dichtung her, falls die Auflage, auf die das Deckglas zu liegen kommt, wirklich plan gearbeitet ist. Um etwaige oligodynamische Wirkungen oder andere Störungen von vornherein auszuschalten, überzog ich die Metallteile der zudem vernickelten Kammern innen mit einer dünnen Schicht Paraffin. Vor und hinter der Kammer erübrigt sich das, da der aus einer großen Glasflasche kommende Zufluß über einen Glashahn und Pipettenschlauch ging und der Abfluß wieder über einen Glashahn. Die Alge blieb denn auch in der Kammer, wenn sie mit Leitungswasser beschickt war, tagelang am Leben und reaktionsfähig, selbst dann, wenn kein Durchfluß stattfand.

Die Fixierung der Algenfäden in der Kammer läßt sich leicht dadurch erreichen, daß man eine zarte Strähne der Alge an ihren beiden Enden auf eines der Deckgläser mit kalter (!) Vaseline klebt.

2. Meßverfahren

Da der äußere Durchmesser der Kammern nur knapp 3 cm betrug, konnte ich, wenn nötig, wieder mehrere Präparate gleichzeitig vor derselben Lampe aufstellen. Das geschah in der gleichen Weise, wie es für die einfachen Objektträgerpräparate auf S. 7 bereits beschrieben worden ist (vgl. auch Abb. 3). Die *Stärke des Durchflusses* war nach Lage der Dinge besonders zu beachten. Die Durchströmung wurde daher für jede Kammer individuell durch Regulation des den Abfluß bestimmenden Hahnes auf die gewünschte Geschwindigkeit gebracht. Als *Temperatur* des durchfließenden Wassers notierte ich die des gerade austretenden Tropfens. Sie wurde mittels eines Hg-Thermometers unmittelbar an der Austropfstelle gemessen. Die so ermittelten Werte sind freilich infolge der hier einsetzenden Verdunstung etwas zu niedrig. Der Fehler ist jedoch klein. Zudem fällt er so gut wie weg, wenn es, wie hier, in erster Linie darauf ankommt, etwaige *Änderungen* der Temperatur zu erfassen. Auch die *mikroskopische Beobachtung* der Kammerpräparate konnte jederzeit ohne Störung des etwa noch laufenden Versuches vorgenommen werden. Denn die durch einen längeren Pipettenschlauch an die Zuleitungsröhren angeschlossenen Kammern ließen sich leicht und rasch auf den Objekttisch bringen, wo alsdann der Profilwert bei gleichmäßig weiterströmendem Wasser geschätzt wurde oder sonstwie bemerkenswerte Dinge beobachtet werden konnten.

B. Versuche

1. Nachuntersuchung der Streuungskurve

Zunächst war es wissenswert festzustellen, welche Streuung der Profilwert nunmehr bei Verwendung der Kammern aufweist. Denn die von den Objektträgerpräparaten in den verschiedenen Intensitätslagen angezeigten Werte der Abb. 1 sind jetzt nach den im vorigen Abschnitt gemachten Erfahrungen nicht mehr ohne weiteres miteinander vergleichbar. Werden doch auch bei *Mougeotia* der Verbrauch an CO_2 und die Produktion von O_2 in hohem Maße von der Helligkeit abhängen. Bei Objektträgerpräparaten dürfte also der vom Medium ausgehende, die Lichtstimmung sekundär beeinflussende „Gas"-Faktor je nach der Intensitätslage verschieden groß sein. Infolgedessen ist es ungewiß, ob die eingangs ermittelte Streuungskurve (Abb. 1) nicht durch mittelbare Lichtwirkung sekundär verändert ist.

In Abb. 6 gebe ich daher einen Versuch mit sechs Durchströmungskammern wieder, bei dem diese Ungewißheit wegfällt (als Medium wieder abgestandenes Leitungswasser vom p_H 7,7). Die Kurve, die sich aus den Profilwerten zusammensetzt, die nach einer 140minütigen Beleuchtung abgelesen wurden, gleicht der an den Objektträgerpräparaten gewonnenen Kurve I der Abb. 1. Allerdings darf die Übereinstimmung nur im Hinblick auf die *Gestalt* der beiden Kurven, d. h. im Hinblick auf den Verlauf ihrer Steilheit gewertet werden. In geringerer bzw. größerer Steilheit der Kurve kommt ja in jeder Stimmungslage die größere oder geringere Streuung zum Ausdruck, während die *Lage* einer solchen Kurve, also ihr Schnittpunkt mit der Abszisse, wie sich noch zeigen wird, mehr von der Stimmungslage abhängt. Die Gestalt der beiden Kurven aber ist so gut wie gleich! Es trat also bei den Objektträgerpräparaten der in den tieferen Intensitätslagen sicherlich geringere CO_2-Verbrauch offenbar nicht weiter hervor; wenigstens anfangs nicht! Denn in anderer Hinsicht besteht zwischen dem Verhalten jener Objektträger- und Kammerpräparate ein aufschlußreicher Unterschied: nur die 30 min-Kurve der Abb. 1 stimmt gestaltlich weitgehend mit Abb. 6 überein, nicht dagegen die Kurve III, die die Profilwerte nach erst 2stündiger Beleuchtung wiedergibt und daher zeitlich viel besser zu Abb. 6 passen würde. Kurve III geht aber anfangs weniger steil, schließlich jedoch viel steiler in die Höhe als Kurve I und die Kurve in Abb. 6. Dieser Unterschied dürfte schon einen tieferen Grund haben und damit zusammenhängen, daß sich die Gasverhältnisse in abgeschlossenen Präparaten zusehends ändern. Nach der nur $^1/_2$stündigen Beleuchtung dürften sie den in den Durchströmungskammern gegebenen Verhältnissen noch geähnelt haben; daher das ähnliche Kurvenbild in beiden Fällen! Nach 2stündiger Beleuchtung dagegen ist der Profilwert bei den Objektträgerpräparaten (Abb. 1, Kurve III) besonders in den tieferen Intensitätslagen bereits

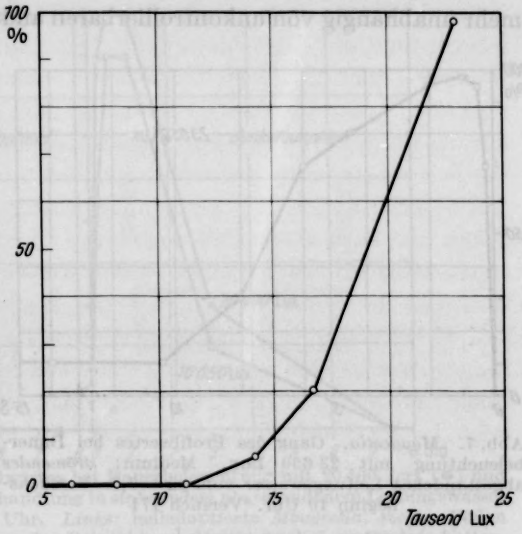


Abb. 6. *Mougeotia*. Profilwerte in 6 verschiedenen Intensitätslagen nach einer Beleuchtung von 140 min. Medium: *strömendes* abgestandenes Leitungswasser vom $p_H = 7{,}7$. Temperatur: $+ 23{,}5° C \pm 0{,}2°$. Versuch 166

stark zurückgegangen; daher die geringe Steilheit am Anfang dieser Kurve und der alsdann so steile Anstieg! Dieser Verlauf zeigt einen Rückgang in der „Empfindlichkeit" an, der damit erneut auf eine durch die Assimilation bedingte Änderung der Gasverhältnisse hindeutet.

2. *Phototaxis und Adaptation*

Beeinflußt die *Dauer* der Beleuchtung auch *unmittelbar* die Stimmung der *Mougeotia*? Diese schon auf S. 9 erhobene Frage läßt sich nunmehr unabhängig von unkontrollierbaren anderen Faktoren untersuchen, da in gleichmäßig strömendem Wasser alle anderen Einflüsse ausgeschaltet sind, die während der Beleuchtung mittelbar die Lichtstimmung ändern könnten.

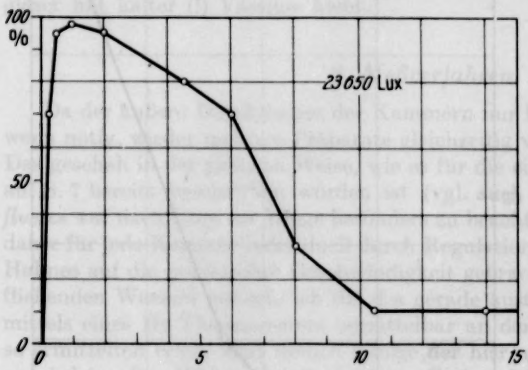


Abb. 7. *Mougeotia*. Gang des Profilwertes bei Dauerbeleuchtung mit 23 650 Lux. Medium: *strömendes* abgestandenes Leitungswasser vom $p_H = 7{,}7$. Versuchsbeginn 10 Uhr. Versuch 171

a) Adaptations-Versuche. Abb. 7, die die Reaktion einer *Mougeotia*-Locke auf eine Dauerbeleuchtung mit 23650 Lux wiedergibt, zeigt mit aller Deutlichkeit, daß *eine längere Beleuchtung mit hoher Intensität stark und verhältnismäßig rasch höher stimmt.* Denn bereits nach einer Beleuchtung von nur 75 min sinkt hier der Profilwert von 98% allmählich bis auf den nach rund 10stündiger Beleuchtung erreichten Wert von 10%. *Mougeotia adaptiert sich also in der Tat an die Helligkeit ihres Lebenraumes. Helladaptierte Mougeotia ist „höher" gestimmt als dunkel adaptierte.*

Den noch ausstehenden unmittelbaren Beweis liefert Abb. 8. Sie gibt über die Reaktion zweier frisch hergestellter Kammerpräparate Auskunft sowie über das Verhalten zweier aus der gleichen Materialprobe zum gleichen Zeitpunkt hergestellter, jedoch zunächst dunkelgehaltener Kammerpräparate. Das Dunkelmaterial reagierte danach, wie ich es ähnlich in anderen Versuchen immer wieder beobachtete, auf nur 16650 Lux stärker negativ als das Hellmaterial auf 20.400 Lux. Hierdurch wird die für Abb. 7 gegebene Deutung vollauf bestätigt.

Bei *Mougeotia* beeinflußt also auch die Dauer der Beleuchtung die Lage des Umschlagspunktes *unmittelbar*, nämlich infolge von Adaptationsvorgängen; und zwar schon in einer verhältnismäßig kurzen Zeit! Es genügt nach Abb. 7 eine nur 7stündige Beleuchtung, um bei der

gebotenen hohen Intensität von 23.650 Lux den Profilwert um volle 50% herabzudrücken. Und bei nicht ganz so hohen Beleuchtungsstärken fallen die Profilwerte nach Erreichen eines Maximums noch rascher (Abb. 8). Die Helladaptation kommt sogar schon nach nur 1stündiger Beleuchtung sowohl in den Abb. 7 und 8 als auch z. B. in der noch zu besprechenden Abb. 15 zum Ausdruck. Einige Kurven der Abb. 15 (S. 29) zeigen ein Absinken des Profilwertes (bei weitgehender Temperaturkonstanz!) sogar schon nach $^1/_2$stündiger Beleuchtung, ein Zeichen, wie

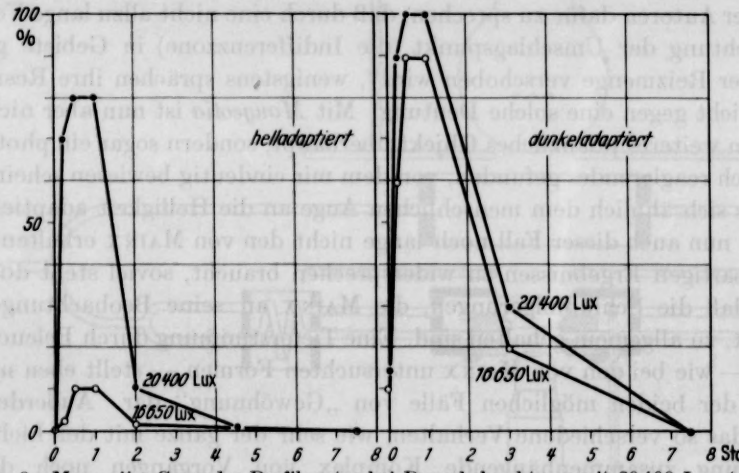


Abb. 8. *Mougeotia*. Gang des Profilwertes bei Dauerbeleuchtung mit 20400 Lux (●) und 16650 Lux (○). Reaktion und Vorbehandlung in *strömendem* abgestandenem Leitungswasser vom $p_H = 7{,}7$. Versuchsbeginn 10 Uhr. *Links:* helladaptierte *Mougeotia*; *rechts:* Fäden der gleichen Locke, die jedoch vor der Beleuchtung 24 Std dunkel gestanden hatten. Versuch 171

früh der umstimmende Vorgang anläuft. Im übrigen ist es wohl kein Zufall, daß ein beginnender Stimmungsumschwung auch bei den von Mainx untersuchten freibeweglichen Algen etwa zur selben Zeit schon deutlich zu beobachten war. Es ist also erwiesen, daß die bei *Mougeotia* an den Objektträgerpräparaten bei längerer Beleuchtung gefundene oder nach Lichtentzug beobachtete Stimmungsänderung wenigstens zum Teil auf Adaptation beruht.

Die Adaptation der *Mougeotia* scheint mir noch insofern sehr bemerkenswert, als Mainx (1929, S. 140) bei *Synura*, *Gonium* und *Eudorina* und damit bei *allen* von ihm untersuchten Algen gerade entgegengesetzte Verhältnisse gefunden hat: eine länger dauernde Beleuchtung verlagert hier den Umschlagspunkt gerade nach unten, „sensibilisiert" also gleichsam die Alge, während eine länger dauernde Verdunkelung den Umschlagspunkt in höhere Intensitäten rückt, ein überraschendes Ergebnis, das mit der bis dahin herrschenden, aber, wie Mainx glaubt, wenig gesicherten Vorstellung über die Richtung einer solchen

Stimmungsänderung völlig in Widerspruch steht. Vielleicht trifft das auch für *Volvox* zu. Jedenfalls sah BUDER 1917 (nach freundlicher mündlicher Mitteilung) wiederholt *V. aureus* nach mehrstündigem Aufenthalt in direktem Sonnenlicht negativ werden.

Ich hätte nun hierauf wie auf den Fall *Mougeotia* nicht weiter hingewiesen, hätte MAINX nicht ausdrücklich hervorgehoben, alle Literaturangaben über eine bei Beleuchtung eintretende Höherstimmung seien wenig beweiskräftig, jedenfalls schienen „die Versuchsergebnisse vieler neuerer Autoren dafür zu sprechen, daß durch eine nicht allzu lange Vorbeleuchtung der Umschlagspunkt (die Indifferenzzone) in Gebiete geringerer Reizmenge verschoben wird", wenigstens sprächen ihre Resultate nicht gegen eine solche Deutung. Mit *Mougeotia* ist nun aber nicht nur ein weiteres pflanzliches Objekt überhaupt, sondern sogar ein phototaktisch reagierendes gefunden, von dem mir eindeutig bewiesen scheint, daß es sich ähnlich dem menschlichen Auge an die Helligkeit adaptiert. Wenn nun auch dieser Fall noch lange nicht den von MAINX erhaltenen andersartigen Ergebnissen zu widersprechen braucht, soviel steht doch fest, daß die Schlußfolgerungen, die MAINX an seine Beobachtungen knüpft, zu allgemein gehalten sind. Eine Tieferstimmung durch Beleuchtung — wie bei den von MAINX untersuchten Formen — stellt eben nur einen der beiden möglichen Fälle von „Gewöhnung" dar. Außerdem zeigt das so verschiedene Verhalten, wie sehr der ganze mit der Lichtstimmung zusammenhängende Komplex von Vorgängen noch der Klärung bedarf.

b) Kritik der Adaptationsversuche. Zu den Abb. 7 und 8 ist noch nachzutragen, daß die Temperatur während der Versuche infolge einer allmählichen Erwärmung der Dunkelkammer nicht konstant blieb. So betrug die Temperatur des aus dem Hahn der Kammer tropfenden Wassers bei Abb. 7 anfangs 23,2 und am Ende 24,2° C. Indessen kann dieser kleine und nur allmähliche Temperaturanstieg von 1° C/20 Std jenen starken Abfall des Profilwertes nicht bewirkt haben. Denn eigens hierauf abzielende Versuche, in denen ich die auf 14700 Lux bei 20 und 25° C eintretenden Profilwerte ermittelte, ließen keine deutlichen Unterschiede erkennen, wie das im letzten Abschnitt ja auch stillschweigend vorausgesetzt worden ist. Danach ist es also recht wahrscheinlich, daß der Gang der Kurve in Abb. 7 in keiner Weise durch die beobachtete Erwärmung maßgeblich beeinflußt worden ist.

Allerdings ist eine temperaturbedingte Umstimmung von negativer zu positiver Reaktion schon mehrfach beobachtet worden; z. B. von JACOBSEN (1910) bei der Phototaxis von *Spondylomorum*-Kolonien. Die Umstimmung erfolgte hier jedoch erst bei einer Temperaturerhöhung von Zimmerwärme auf + 38° C (!). Und in den anderen Fällen, die die ältere Literatur verzeichnet, waren größere *abwärtsgerichtete* Temperatursprünge erforderlich; so bei *Haematococcus* auf + 4° C (STRASBURGER 1878) oder bei *Chromulina* auf + 5° C (MASSART 1891). In allen diesen Fällen

gelang also die Umstimmung erst bei einer ganz beträchtlichen Temperaturänderung. Und wenn MAINX (1929, S. 135) mit feinerem Verfahren neuerdings bei einigen grünen Protisten gefunden hat, daß hier auch kleinere Temperatursprünge den Umschlagspunkt deutlich verschieben, so arbeitete er immerhin noch mit Intervallen von mindestens 5° C. Aus MAINXs Versuchswerten geht aber hervor, daß sich, streng genommen, selbst feinste Temperaturschwankungen auf die Stimmung auswirken können, wenn es sich dabei wohl auch nur um entsprechend

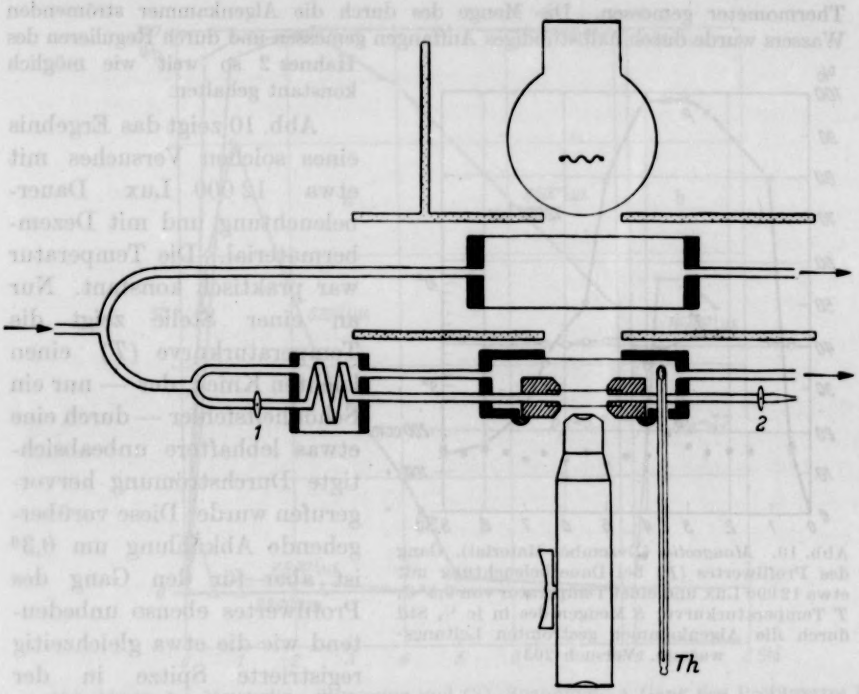


Abb. 9. Beleuchtungs-, Kühl- und Ableseeinrichtung zur Untersuchung der *Mougeotia*-Phototaxis bei konstanter Temperatur. Nicht maßgetreu. *Th*: Thermometer; punktiert: Asbestblenden

geringfügige Verschiebungen des Umschlagspunktes handeln wird. Andererseits spricht zugunsten unserer Adaptationsversuche, daß MAINX durch Temperaturerhöhung, wenn überhaupt, dann gerade eine Tieferstimmung erreicht hat; wenigstens war das in den wenigen mit *Synura*, *Gonium* und *Eudorina* angestellten Versuchen so, und nur *Chlorogonium* machte eine noch ungeklärte Ausnahme.

Gleichwohl stellte ich wegen der Möglichkeit eines in meinen Versuchen etwa dennoch unterlaufenen Temperaturfehlers einige Versuche bei weitestgehender Temperaturkonstanz an, da mir die überzeugende Ausschaltung eines etwaigen Temperaturfehlers wegen eines alsdann unumstößlich erwiesenen Falles von Adaptationsfähigkeit doppelt notwendig erschien.

So gut wie volle Temperaturkonstanz erreichte ich mit einer Apparatur, die ich wegen ihrer großen Einfachheit in Abb. 9 wiedergegeben habe. Die Kühlanlage,

die zur Erzielung von Temperaturkonstanz die überaus gleichmäßige Temperatur des strömenden Leitungswassers nutzt, wird unmittelbar an die Wasserleitung angeschlossen. Die Versuchsanordnung weicht von der sonst von mir gewählten Technik durch die fest montierte Ablesevorrichtung ab und durch den Umstand, daß die Algenkammer in eine zweite Kammer eingekittet ist, die wie die Kühlcuvette von raschströmendem Leitungswasser durchflutet wird. Die Temperatur wurde mit einem in die äußere Kammer eingekitteten in $^1/_5$-Grade unterteilten Thermometer gemessen. Die Menge des durch die Algenkammer strömenden Wassers wurde durch halbstündiges Auffangen gemessen und durch Regulieren des Hahnes 2 so weit wie möglich konstant gehalten.

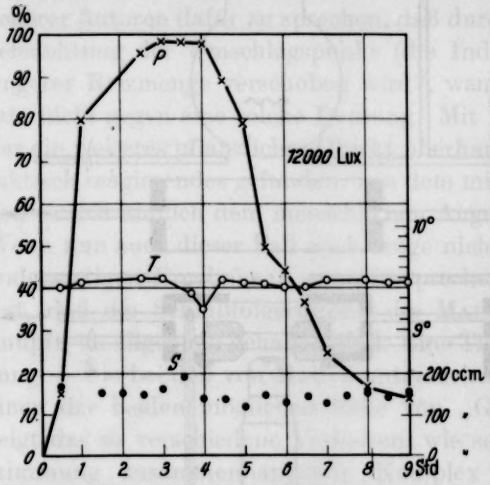


Abb. 10. *Mougeotia* (Dezember-Material). Gang des Profilwertes (*P*) bei Dauerbeleuchtung mit etwa 12 000 Lux und einer Temperatur von 9,5° C. *T* Temperaturkurve; *S* Mengen des in je $^1/_2$ Std durch die Algenkammer geströmten Leitungswassers. Versuch 203

Abb. 10 zeigt das Ergebnis eines solchen Versuches mit etwa 12 000 Lux Dauerbeleuchtung und mit Dezembermaterial. Die Temperatur war praktisch konstant. Nur an einer Stelle zeigt die Temperaturkurve (*T*) einen leichten Knick, der — nur ein Schönheitsfehler — durch eine etwas lebhaftere unbeabsichtigte Durchströmung hervorgerufen wurde. Diese vorübergehende Abkühlung um 0,3° ist aber für den Gang des Profilwertes ebenso unbedeutend wie die etwa gleichzeitig registrierte Spitze in der Durchströmung der Kammer. Denn der stärkere Durchfluß hätte, wenn überhaupt, dann allenfalls die negative Tendenz gefördert (mehr CO_2/Zeiteinheit); und gleich ihm wohl auch der vorübergehende leichte Temperatursturz. Da die Alge im Winter sehr dunkel stand, fand sich zu dieser Jahreszeit stets ein tiefliegender Umschlagspunkt, falls nicht inzwischen eine Höherstimmung durch stärkere Beleuchtung eingetreten war. Es sank indessen der Profilwert, der sein Maximum diesmal, der niederen Temperatur von 9,5° C entsprechend, erst nach 3 Std erreicht hatte, von der 4. Stunde an immer stärker, so daß er nach 9stündiger Beleuchtung, beim Abbrechen des Versuches, auf rund 15% gefallen war. Da die Temperatur in diesem Versuch praktisch konstant war und die Durchströmung der Kammer sich auf sehr gleichmäßiger Höhe bewegte, ist das *Adaptationsvermögen der Mougeotia nunmehr endgültig bewiesen.*

3. Stimmung und CO_2-Spannung

a) Grundversuche. Die Kammern gaben schließlich noch die Möglichkeit, die Stimmung der *Mougeotia* bei verschiedenem, aber

gleichbleibendem CO_2-Gehalt des Wassers zu untersuchen. Dabei bestätigte sich endgültig, daß eine Erhöhung des CO_2-Gehaltes den Umschlagspunkt nach niederen Intensitäten zu verschiebt. Das belegen eindringlich die Abb. 11 und 12, die zwei Versuche wiedergeben, in denen je vier Kammerpräparate bei strömendem, CO_2-reichem Wasser mit jedesmal vier verschiedenen Intensitäten beleuchtet wurden.

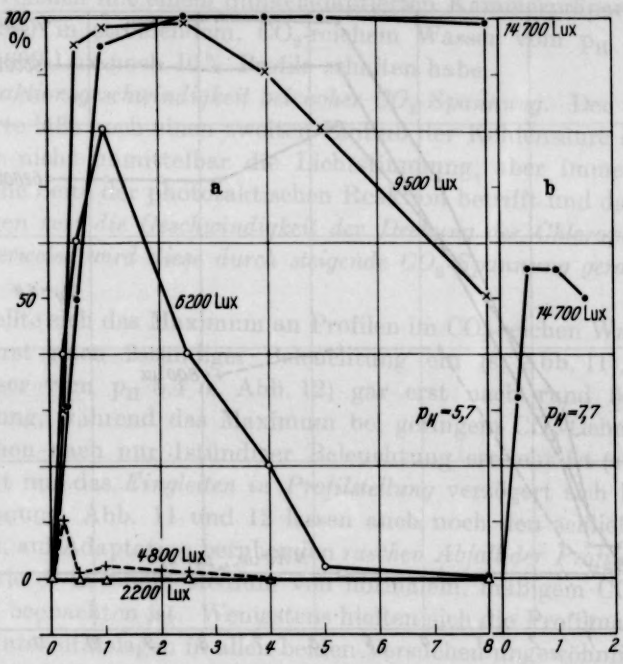


Abb. 11a u. b. *Mougeotia*. Stimmung und CO_2-Spannung. a Gang des Profilwertes bei Dauerbeleuchtung (5 verschiedene Intensitätslagen). Medium: *strömendes* kohlensäurehaltiges Wasser vom p_H 5,7. Versuchsbeginn 12 Uhr. Versuch 188. b Gang des Profilwertes bei Dauerbeleuchtung mit 14 700 Lux (Mittelwerte von 4 Kammerpräparaten, Versuche 184—187). Medium: *strömendes* abgestandenes Leitungswasser vom p_H 7,7

Der Gehalt des Wassers an gesamter freier Kohlensäure wurde errechnet aus der Formel nach EINSELE:

$$\text{mg/l freie } CO_2 = \text{mg/l Bik. } CO_2 \frac{10^{-p_H}}{3{,}04 \cdot 10^{-7}}.$$

Der Wert für die Carbonat-CO_2 wird dabei aus der Alkalität durch Multiplikation mit 44 gewonnen. Die gebundene CO_2 sowie der Wert für die freie zugehörige CO_2 wurden nach der Tabelle von TILLMANNS und HEUBLEIN (MRUGOWSKY 1941) berechnet, die Alkalität durch Titration mit n/10-Salzsäure bestimmt. Die aggressive CO_2 wurde durch Subtraktion der freien zugehörigen CO_2 von der gesamten freien CO_2 errechnet. Das p_H wurde elektrometrisch bestimmt mit dem Ionometer der Firma Lautenschläger, München, mit Verwendung von Chinhydron. Eine Kontrolle der Meßgenauigkeit ergab eine Fehlerbreite von 0,01, so daß Berechtigung besteht, den p_H-Wert in die Formel von EINSELE einzusetzen.

Das p_H des Ausgangwassers betrug immer 7,7, das des mit Bombenkohlensäure angesäuerten Wassers dem jeweiligen CO_2-Zusatz entsprechend weniger.

α) *Gang der Profilwerte bei hoher CO_2-Spannung.* Zunächst sei Abb. 11 besprochen, die den Gang der Profilwerte bei einer *nur zum* p_H *5,7 führenden Ansäuerung des Wassers* (entspricht einem Gehalt an freier

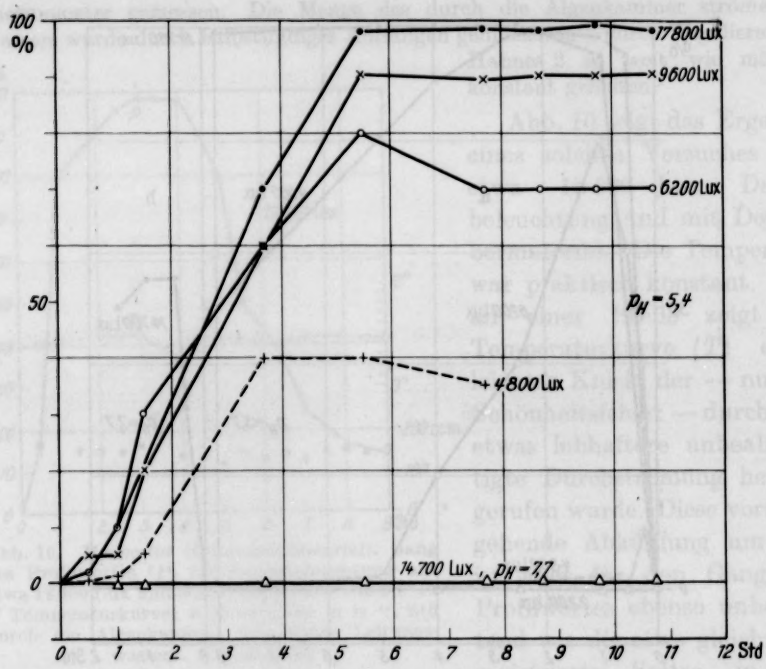


Abb. 12. *Mougeotia.* Gang des Profilwertes bei Dauerbeleuchtung (4 verschiedene Intensitätslagen). Medium: *strömendes* Leitungswasser von besonders hohem CO_2-Gehalt (p_H = 5,4). △——△: Kontrollpräparat bei 14 700 Lux. Medium: *strömendes* abgestandenes Leitungswasser vom p_H = 7,7. Versuchsbeginn 11 Uhr. Versuch 179

CO_2 von 837,4 mg/l) wiedergibt. Dabei traten noch in nur 9500 Lux maximal 99% Profile auf! In nur 6200 Lux waren es maximal 80% und in 4800 Lux noch volle 10% Profile. Der hohe umstimmende Einfluß der Kohlensäure wird durch Abb. 11 b bewiesen. Diese gibt das Verhalten von vier Vergleichspräparaten wieder, die aus demselben Material, in strömendem abgestandenem Leitungswasser vom p_H 7,7 vollen 14700 Lux ausgesetzt waren. Trotz dieser weit stärkeren Beleuchtung ergaben sie eine Kurve, deren Scheitel noch nicht einmal an 60% heranreicht.

Bei *noch höherem CO_2-Gehalt* des Mediums (p_H 5,4; 1671 mg freie CO_2/l; Abb. 12) traten selbst in der verhältnismäßig sehr tiefen Intensitätslage von 4800 Lux allmählich bis zu 40% Profile auf! In einem Kontrollpräparat hingegen, das in diesem mit besonders hoher CO_2-

Spannung ausgeführten Versuch gleichzeitig von abgestandenem Wasser[1] (p_H 7,7; 8,374 mg freie CO_2/l) durchströmt wurde, wiesen alle Platten bei sogar 14700 Lux ausnahmslos ausgesprochene Flächenstellung auf und dies vom Beginn der Beleuchtung an bis zum Abbruch des Versuchs. Eindrucksvoller hätte sich der umstimmende Einfluß der Kohlensäure kaum präsentieren können. Es ist daher verständlich, daß ich in einem anderen Versuch mit einem dunkeladaptierten Kammerpräparat (12 Std Dunkelheit) in strömendem, CO_2-reichem Wasser vom p_H 5,4 sogar bei nur 1600 Lux noch 10% Profile erhalten habe.

β) *Reaktionsgeschwindigkeit bei hoher CO_2-Spannung.* Der Gang der Profilwerte läßt noch einen zweiten Einfluß der Kohlensäure erkennen, der zwar nicht unmittelbar die Lichtstimmung, aber immerhin eine wesentliche Seite der phototaktischen Reaktion betrifft und daher nicht übergangen sei: *die Geschwindigkeit der Drehung der Chlorophyllplatte. Auffälligerweise wird diese durch steigende CO_2-Spannung gerade herabgesetzt.*

So stellte sich das Maximum an Profilen im CO_2-reichen Wasser vom p_H 5,7 erst nach 2stündiger Beleuchtung ein (s. Abb. 11), und in CO_2-Wasser vom p_H 5,4 (s. Abb. 12) gar erst nach rund 5stündiger Beleuchtung, während das Maximum bei geringem CO_2-Gehalt in der Regel schon nach nur 1stündiger Beleuchtung erreicht ist (s. Abb. 7). Und nicht nur das *Eingleiten in Profilstellung* verzögert sich bei hoher CO_2-Spannung. Abb. 11 und 12 lassen auch noch den schließlich eintretenden, auf Adaptation beruhenden *raschen Abfall der Profilwerte* vermissen, wie er in einem Medium von normalem, mäßigem CO_2-Gehalt immer zu beobachten ist. Wenigstens hielten sich die Profilmaxima der höheren Intensitätslagen in allen beiden Versuchen ungewöhnlich lange. Außerdem geht bereits aus einem Vergleich beider Abbildungen hervor, daß sich der Rückgang der Profilwerte um so mehr verzögert, je höher die CO_2-Spannung des Mediums ist. Dies Abbremsen der Bewegung geht mit zunehmender CO_2-Spannung schließlich so weit, daß die Drehung im hängenden Tropfen über reiner Kohlensäure überhaupt sistiert ist, wie das schon Lewis (1898, S. 421) und Senn (1908, S. 178) gefunden haben. Ich bin dieser Erscheinung daher nicht weiter nachgegangen und habe sie nur deshalb erwähnt, weil dadurch die von der Kohlensäure gleichzeitig bewirkte *Erhöhung* der „Empfindlichkeit" um so bemerkenswerter erscheint. Kommt dadurch doch den Versuchen des folgenden Abschnittes noch mehr Gewicht zu und macht es wahrscheinlich, daß die Förderung der negativen Tendenz ähnlich wie die Lähmung der Drehgeschwindigkeit auf einer beginnenden schädigenden „Gift"-Wirkung der hohen CO_2-Konzentration beruht.

[1] 5,6 mg/l freie zugehörige CO_2, 2,774 mg/l aggressive CO_2, 63,8 mg/l gebundene CO_2.

b) Ergänzende Versuche. *α) Positive Reaktion allein durch Wasserwechsel.* Bei einer Wiederholung eines der Versuche mit strömendem CO_2-reichen Wasser vom p_H 5,4 habe ich nach $4^1/_2$stündiger Beleuchtung plötzlich normales, abgestandenes Leitungswasser vom p_H 7,7 durch die Kammern geschickt. Der plötzliche Wasserwechsel, der einfach über einen Zweiwegehahn vorgenommen wurde, erfolgte also zu einem Zeitpunkt, zu dem das Maximum an Profilen wahrscheinlich in keiner Intensitäts-Lage bereits erreicht, bestimmt aber noch lange kein Abfall der Profilwerte zu erwarten war. Sofort machte sich der Einfluß der niederen CO_2-Spannung bemerkbar: die Profilwerte sanken in allen Intensitätslagen rapide (Abb. 13). So war in 10000 Lux schon 1 Std nach dem Wasserwechsel bei allen Zellen ausnahmslos Flächenstellung eingetreten.

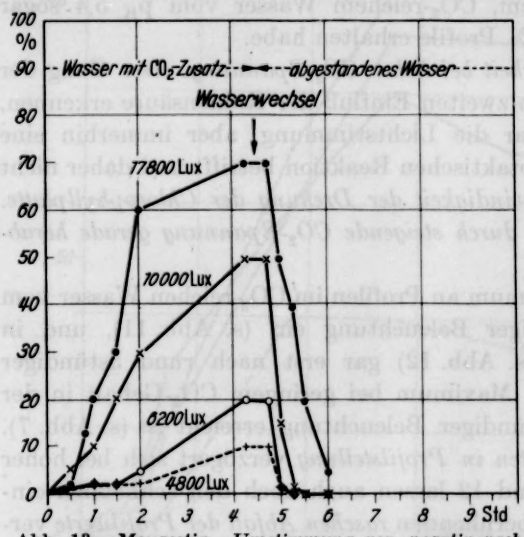


Abb. 13. *Mougeotia. Umstimmung von negativ nach positiv durch Wasserwechsel.* Gang des Profilwertes bei Dauerbeleuchtung (4 Intensitätslagen). Nach $4^1/_2$stündiger Durchströmung mit CO_2-reichem Leitungswasser vom p_H 5,4 wurde plötzlich (↓) CO_2-armes Leitungswasser vom p_H = 7,7 durch die Kammern geleitet. Versuchsbeginn 17 Uhr. Versuch 177

β) Negative Reaktion allein durch Wasserwechsel. Auch gelingt es umgekehrt, wie es ja auch gefordert werden muß, bei gleichbleibender Helligkeit allein durch einen entsprechenden Wasserwechsel jederzeit auf Anhieb Profilstellung hervorzurufen. So habe ich einem Kammerpräparat, das in strömendem, abgestandenem Leitungswasser vom p_H 7,7 auf 14700 Lux Dauerbeleuchtung mit sauberer Flächenstellung *aller* Platten reagiert hatte, $7^3/_4$ Std nach Versuchsbeginn plötzlich CO_2-reiches Wasser vom p_H 5,4 zugeführt (Abb. 14). Schon nach 1 Std war daraufhin in 10% aller Zellen Profilstellung eingetreten. Es muß freilich zunächst auffallen, daß der Profilwert trotz des verhältnismäßig sehr hohen CO_2-Gehaltes des Mediums nicht weiter stieg. Das lag aber ohne Zweifel an einer Abstumpfung, die schon *vor* dem Wasserwechsel als Folge der starken Dauerbeleuchtung eingetreten war. Denn nach Einschieben einer längeren Dunkelpause rief die gleiche Beleuchtung von 14700 Lux (bei gleicher Temperatur) in kurzer Zeit 80% Profile hervor (die Dunkelpause, während der die Kammer weiter gleichmäßig

durchströmt wurde, betrug hier aus rein nebensächlichen Gründen gerade 11 Std).

c) Grad der CO_2-Empfindlichkeit. Die offenbar hohe CO_2-„Empfindlichkeit" der *Mougeotia* wird schon durch den in abgeschlossenen Objektträgerpräparaten auftretenden Randeffekt angedeutet, wie ich die Erscheinung bezeichnet habe, daß der Profilwert bei völlig gleichmäßiger Beleuchtung des Präparates im Zentrum einer *Mougeotia*-Locke anders ist als an deren Peripherie (s. Abschnitt V). Noch deutlicher geht aber

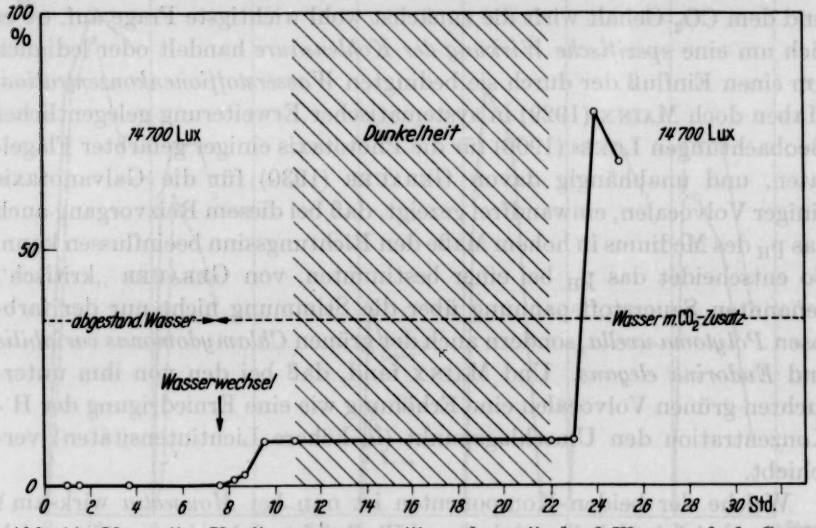


Abb. 14. *Mougeotia. Umstimmung von positiv nach negativ durch Wasserwechsel.* Gang des Profilwertes während einer von einer 11stündigen Dunkelpause unterbrochenen Dauerbeleuchtung von 14700 Lux. Wasserwechsel (↓) nach 7¾stündiger Beleuchtung. Medium: zunächst *strömendes* abgestandenes Leitungswasser ($p_H = 7{,}7$), alsdann *strömendes* CO_2-reiches Leitungswasser ($p_H = 5{,}4$). Versuchsbeginn 12 Uhr. Versuch 179

das Ansprechen auf offenbar kleine Unterschiede in der CO_2-Konzentration daraus hervor, daß selbst in strömendem Wasser (Kammerpräparate!) noch ein Randeffekt auftreten kann. An nicht zu intensiv beleuchteten *Mougeotia*-Locken habe ich oft beachtet, daß der Profilwert selbst bei lebhafter Durchströmung der Kammer an der Seite des Wasserstromes höher war als an der Leeseite. So wiesen zwei Präparate in einem der mit Leitungswasser durchgeführten Versuche (Versuch 184) bei einem Durchfluß von 2 cm³/min. in 14700 Lux nach 1stündiger Beleuchtung die folgenden Profilwerte auf: an der Seite des Zuflusses 95 bzw. 90%, an der Seite des Abflusses nur 70 bzw. 50%. Dieser trotz Durchströmung aufgetretene Randeffekt kann nur so erklärt werden, daß die CO_2-Konzentration in den dem Zufluß zugekehrten Teilen der Locke höher war als an der anderen Seite, sei es, daß den luvseitigen Zellen infolge einer lebhafteren Umspülung in der Zeiteinheit mehr umstimmende

Teilchen zugeführt wurden, oder daß sich in diesen Versuchen die allmähliche Verarmung an CO_2, der das durch die Locke hindurchstreichende Wasser zwangsläufig durch die Assimilation der Fäden unterworfen ist, als Randeffekt bemerkbar machte. Wenigstens wäre es nach dem Beweis der hohen Wirksamkeit der CO_2 sehr unwahrscheinlich, sollte ein anderer Körper den Randeffekt herbeiführen.

4. Zur Natur der CO_2-Wirkung

Die bei *Mougeotia* gefundene Beziehung zwischen der Lichtstimmung und dem CO_2-Gehalt wirft die zunächst wohl wichtigste Frage auf, ob es sich um eine *spezifische Wirkung der Kohlensäure* handelt oder lediglich um einen Einfluß der durch sie bedingten *Wasserstoffionenkonzentration.* Haben doch MAINX (1929) in systematischer Erweiterung gelegentlicher Beobachtungen LOEBS (1906) für die Phototaxis einiger gefärbter Flagellaten, und unabhängig davon GEBAUER (1930) für die Galvanotaxis einiger Volvocalen, einwandfrei gezeigt, daß bei diesem Reizvorgang auch das p_H des Mediums in hohem Maße den Richtungssinn beeinflussen kann. So entscheidet das p_H bei einer bestimmten, von GEBAUER „kritisch" genannten Sauerstoffspannung über die Stimmung nicht nur der farblosen *Polytoma uvella*, sondern auch der grünen *Chlamydomonas variabilis* und *Eudorina elegans.* Und MAINX fand, daß bei den von ihm untersuchten grünen Volvocalen eine Erhöhung wie eine Erniedrigung der $H^{\cdot}$-Konzentration den Umschlagspunkt (in höhere Lichtintensitäten) verschiebt.

Welche der beiden Komponenten ist nun bei *Mougeotia* wirksam? Würde es sich lediglich um einen p_H-Einfluß handeln, dann müßten sich die gleichen Verschiebungen des Umschlagspunktes auch mit einem anderen ansäuernden Agens erzielen lassen, vorausgesetzt freilich, daß dieses auch in die Zellen eindringt, und daß nicht sogleich stärkere Schädigungen eintreten.

Da ich wegen des ständigen und raschen Durchspülens der Kammern auf gepufferte Lösungen verzichten konnte, arbeitete ich einfach mit Säurezusätzen. So zunächst mit Citronensäure.

a) Versuche mit Citronensäure. Leitungswasser brachte ich durch Zusätze von 0,015, 0,02, 0,03 und 0,06% Citronensäure auf ein p_H von 5,75, 5,15, 4,52 und 3,7. Im letzten Falle schmeckte es schon ausgesprochen nach Citronensäure. Zur Kontrolle der Stimmungslage in citronensäurefreiem Wasser prüfte ich, stets im gleichen Versuch, die Reaktion eines (der verhältnismäßig hohen Intensität von 14700 Lux ausgesetzten) Präparates, das von dem gleichen, aber citronensäurefreien (abgestandenen) Leitungswasser (p_H 7,7) durchströmt wurde.

Um das Ergebnis dieser Versuche sogleich vorwegzunehmen: *Die Stimmung der Mougeotia ließ sich durch Citronensäure in keinem Fall*

namhaft beeinflussen. Das zeigte sich sowohl in niederen wie in höheren Intensitätslagen. Bis herauf zu 9500 Lux reagierten die Fäden selbst bei einem p_H von nur 3,7 in allen meinen Versuchen mit Flächenstellung *aller* Platten (geprüft wurde die Reaktion auf 4450, 6250 und 9500 Lux). Das bedeutet um so mehr, als nur 6200 Lux bei CO_2-Wasser von noch vollen 5,7 p_H-Einheiten nach Abb. 11 bereits 80% Profile hervorgerufen haben. Und wie *Mougeotia* in strömendem, citronensäurehaltigem Wasser

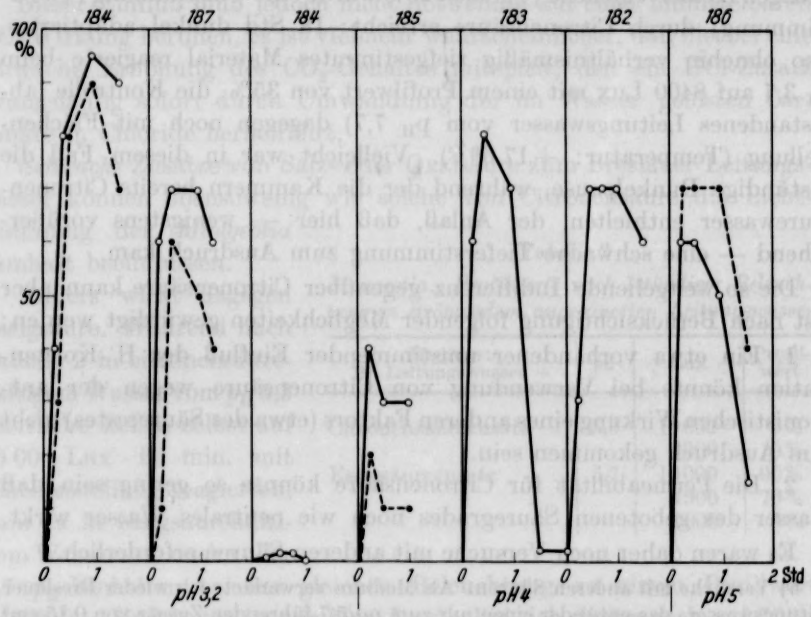


Abb. 15. *Mougeotia.* Gang des Profilwertes bei 14 700 Lux Dauerbeleuchtung. o—o Reaktion in *strömendem* Leitungswasser, das durch Citronensäure auf die angegebenen p_H-Werte gebracht worden war. Versuche 182—187. ●– –● Reaktion in *strömendem* citronensäurefreiem Leitungswasser vom $p_H = 7{,}7$ (Abb. 11b ist das Mittel dieser 4 Kontrollkurven)

schließlich auf die schon verhältnismäßig hohe Intensität von 14700 Lux reagierte, zeigt Abb. 15, die den Gang der in einigen dieser Versuche bei verschiedenem p_H gefundenen Profilwerte wiedergibt. Die Kurven lassen weder eindeutige Unterschiede zwischen den gewählten p_H-Stufen erkennen, noch solche zwischen dem jeweiligen Versuchs- und Kontrollpräparat (ohne Säure: gestrichelte Kurve). Die Kurven stimmen zwar nicht völlig überein. Das hat aber höchstwahrscheinlich seinen Grund in der Stimmungslage der Locken, denn die Versuche fanden zwar sämtlich am gleichen Tage statt, aber naturgemäß nacheinander. Die besondere Stimmungslage der Locken wird also im wesentlichen für die Unterschiede verantwortlich sein.

Eine Tieferstimmung ist also in allen diesen Versuchen nicht eingetreten. Abb. 15 zeigt aber noch weiter, daß es auch nicht zu einer

Höherstimmung kam, wie sie MAINX (1929) bei allen von ihm untersuchten phototaktisch reagierenden Protisten als bemerkenswerte Reaktion bei einer Erhöhung der $H^{\cdot}$-Konzentration erhalten hat. Denn selbst ein bis zum p_H 3,7 führender Citronensäurezusatz ist in diesen Versuchen wirkungslos geblieben. Citronensäure der gebotenen Konzentration kann also nur sehr schwach wirksam gewesen sein, sollte sie die Stimmung der *Mougeotia* überhaupt beeinflußt haben. Nur in einem einzigen meiner Versuche (Versuch 207) wurde eine Umstimmung (Tieferstimmung) durch Citronensäure erreicht: 18 Std dunkel adaptiertes, also ohnehin verhältnismäßig tiefgestimmtes Material reagierte beim p_H 3,7 auf 8400 Lux mit einem Profilwert von 35%, die Kontrolle (abgestandenes Leitungswasser vom p_H 7,7) dagegen noch mit Flächenstellung (Temperatur: $+17{,}6^0$ C). Vielleicht war in diesem Fall die 18stündige Dunkelpause, während der die Kammern bereits Citronensäurewasser enthielten, der Anlaß, daß hier — wenigstens vorübergehend — eine schwache Tieferstimmung zum Ausdruck kam.

Die so weitgehende Indifferenz gegenüber Citronensäure kann aber erst nach Berücksichtigung folgender Möglichkeiten gewürdigt werden:

1. Ein etwa vorhandener umstimmender Einfluß der $H^{\cdot}$-Konzentration könnte bei Verwendung von Citronensäure wegen der antagonistischen Wirkung eines anderen Faktors (etwa des Säurerestes) nicht zum Ausdruck gekommen sein.

2. Die Permeabilität für Citronensäure könnte so gering sein, daß Wasser des gebotenen Säuregrades noch wie neutrales Wasser wirkt.

Es waren daher noch Versuche mit anderen Säuren erforderlich.

b) Versuche mit anderen Säuren. Als Medium verwendete ich wieder Breslauer Leitungswasser, das entweder einen nur zum p_H 5,7 führenden Zusatz von 0,15 cm^3 Essigsäure je Liter erhalten hatte oder, zur Ansäuerung auf ein p_H von 5,3, mit einem Zusatz von entweder 2,5 cm^3 n Salzsäure je Liter oder von 156 mg Oxalsäure je Liter versehen war. Das so angesäuerte Wasser wurde wieder wie in den vorigen Versuchen etwa 5 min vor Beginn der Beleuchtung durch die Kammern geschickt, damit das Leitungswasser, in dem die *Mougeotia*-Locke zuvor durch rund 2500 Lux · 30 min. 100%ig zur Flächenstellung gezwungen worden war, während des eigentlichen Versuches wirklich restlos verdrängt war. Alsdann wurde wieder bei strömendem Medium beleuchtet. Zur Kontrolle der „Grund"-Stimmung wurde in einigen dieser Versuche nicht einfach, wie sonst, ungesäuertes Leitungswasser verwendet, sondern solches, das durch Citronensäure auf ein p_H von ebenfalls 5,3 gebracht worden war. Durch diese in solcher Konzentration ja erwiesenermaßen wirkungslose Ansäuerung war erreicht, daß hinsichtlich des p_H zwischen Versuch und Kontrolle ähnliche Verhältnisse vorlagen.

Bei einer schwachen, nur zum p_H 5,3 führenden Ansäuerung des Leitungswassers mit Salzsäure oder Oxalsäure kommt es offenbar zu keiner Verschiebung des Umschlagspunktes. So zeigte sich z. B. in einem der Versuche noch nach 1stündiger Beleuchtung in allen fünf Kammerpräparaten und jeweils in sämtlichen Zellen Flächenstellung: bei

8600 Lux (Kontrolle, Citronensäure), 5500 bzw. 4600 Lux (Salzsäure) sowie 5300 bzw. 3900 Lux (Oxalsäure). Demgegenüber scheint eine zum p_H 3,8 führende Ansäuerung mit HCl (3 cm³ n HCl/l Leitungswasser) schwach zu wirken; ein mit zwei Kammerpräparaten angestellter Versuch (Versuch 206) brachte folgendes Ergebnis: 8400 Lux führte bei strömendem Leitungswasser ausgesprochene Flächenstellung herbei, strömendes HCl-Wasser jedoch rief gleichzeitig einen Profilwert von rund 10% hervor.

Dieser Einfluß muß jedoch nicht notwendig auf einer unmittelbaren HCl-Wirkung beruhen, es ist vielmehr wahrscheinlicher, daß hierbei eine schwache Erhöhung des CO_2-Gehaltes mitspielt, den ein HCl-Zusatz zwangsläufig sofort durch Umwandlung der im Wasser gelösten Carbonate in Chloride herbeiführt.

Schwache Zusätze von Salz- oder Oxalsäure zum Breslauer Leitungswasser können ebensowenig wie solche von Citronensäure die Lichtstimmung der *Mougeotia* namhaft beeinflussen.

Tabelle 2

Mougeotia. Profilwerte nach 1stündiger Beleuchtung in strömendem, angesäuertem Leitungswasser

Medium: Br. Leitungswasser +	p_H	Lux	Profilwert
Citronensäurezusatz .	5,3	10000	0%
		5900	0%
Essigsäurezusatz . . .	5,7	10000	90%
		5900	70%
		4000	5%

Anders wirkt dagegen Essigsäure. Während nach Tabelle 2 in citronensäurehaltigem Wasser vom p_H 5,3 sämtliche Zellen selbst auf 10 000 Lux · 60 min. mit Flächenstellung reagierten, kam es in essigsäurehaltigem Wasser von noch vollen 5,7 p_H-Einheiten bei der gleichen Beleuchtung zu einem Profilwert von 90%. Und sogar in nur 5900 Lux belief sich dieser noch auf 70%, ja selbst in nur 4000 Lux war eine einheitlich positive Reaktion noch nicht möglich.

Die Frage nach der Natur der CO_2-Wirkung scheint mir dahin beantwortet zu sein, daß sie nicht nur einfach auf einer p_H-Wirkung beruht, sondern daß auch eine spezifische Wirkung der Anionen im Spiele ist.

Hierfür spricht erstens der bei vielfach höherer $H^{\cdot}$-Konzentration nur geringe Einfluß der anderen Säuren, der allerdings zum Teil durch Permeabilitätsschwierigkeiten begründet werden kann. Sicherlich muß man nämlich annehmen, daß gerade Stoffe wie Essigsäure und vor allem Kohlensäure besonders leicht und leichter als Oxal- und Citronensäure, Salzsäure aber nur sehr schwer die Plasmagrenzschichten passieren. Daß Citronensäure aber schließlich in die Zellen eindringt, zeigt sich darin, daß die Platten (bei positiver Reaktion der Zellen) schon nach 30 min im Vergleich zu den Kontrollen beträchtlich kontrahiert waren (Versuch 204), ein Zeichen dafür, daß Citronensäure in der Tat nicht so wirkungslos war, wie man nach dem offenbar ungestörten Verhalten annehmen

könnte. Und auch im besprochenen HCl-Versuch 206 (s. S. 31), der bei einem p_H von 3,5 zu einer geringen Tieferstimmung führte, waren die Platten schon bei der ersten, nach 30 min Beleuchtung vorgenommenen Ablesung durchweg deutlich kontrahiert, nicht dagegen die der Kontrolle; eine Erscheinung, die ich übrigens auch stets bei CO_2-Zusatz beobachtet habe.

Zweitens spricht — bei immerhin nicht unbeträchtlichen Permeabilitätsunterschieden — die offenbar gleich weitgehende Indifferenz gegenüber Salz-, Oxal- und Citronensäure dafür, daß bei *Mougeotia* eine spezifische Wirkung der so stark tieferstimmenden Kohlensäure und Essigsäure vorliegt.

Drittens die Tatsache, daß auch andere Organismen wohl durch Kohlensäure, die hier vor allem interessiert, nicht aber in gleicher Weise von anderen Säuren zu beeinflussen sind. Wenigstens hat für eine andere Lichtwirkung, die Photokinese, BOLTE (1920, S. 310ff.) nachgewiesen, daß CO_2 zur Aufrechterhaltung der Beweglichkeit nötig ist (bei *Pandorina*, *Volvox aureus*, *Euglena gracilis*, *Trachelomonas*) und daß für *Pandorina*, *Volvox*, *Menoidium* u. a. die CO_2 nicht durch die allerdings auch schwerer permeierende Phosphor-, Citronen- oder Weinsäure ersetzt werden kann. Auch Versuche LOEBS (1910) an Copepoden haben gezeigt, daß hier der Säureeinfluß nicht nur p_H-bedingt, sondern außerdem ionenspezifisch bedingt zu sein scheint. Auf die Phototaxis dieser Copepoden hatte bemerkenswerterweise die CO_2 den stärksten Einfluß, weniger wirksam waren in absteigender Reihe: Capronsäure (erforderliche Konzentration 0,0019 n) und Ameisensäure (0,006 n); von den anorganischen Säuren HCl, HNO_3 und H_2SO_4 waren schon Konzentrationen von 0,006 n erforderlich, um gerade eben positive Phototaxis herbeizuführen.

VIII. Sogenannte Schrägstellung der Mougeotia-Chloroplasten

Die im vorhergehenden mitgeteilten Versuche haben gezeigt, daß eine *Mougeotia* in einer bestimmten Stimmungslage unterhalb einer gewissen Lichtintensität streng positiv reagiert und oberhalb des Umschlagspunktes scharf negativ. Nun geht aber aus der Tatsache der Adaptationsfähigkeit hervor, daß sich *bei längerer Beleuchtung das positive Gebiet nach höheren Intensitäten zu erweitert!* Dieses für die Chloroplasten-Phototaxis an sich schon bemerkenswerte Ergebnis ist hier im besonderen für die Kenntnis der Verhältnisse in der Nähe des Umschlagspunktes äußerst aufschlußreich, wie aus folgendem Gedankenversuch hervorgeht.

Ein einzelner *Mougeotia*-Faden, der aus einer sehr großen Anzahl völlig gleich reagierender Zellen bestehe, soll von der Seite her derart beleuchtet werden, daß die eine Endzelle nur gerade soviel Licht bekommt, daß sie positiv reagiert, die nächste Zelle dagegen schon etwas mehr Licht erhält und so fortlaufend, so daß schließlich die letzte Zelle,

also die am anderen Ende des Fadens liegende, sehr intensivem Licht von beispielsweise 50000 Lux ausgesetzt ist. Dauerbeleuchtung ergäbe nun folgendes Bild: Zunächst würden alle Zellen oberhalb einer bestimmten Intensität negativ reagieren, alle darunter befindlichen positiv, und dazwischen läge, wie wohl angenommen werden muß, eine Indifferenzzone, in der also die Zellen überhaupt nicht reagieren. Dieser Zustand bliebe aber nicht lange erhalten. Denn nach einer kurzen Zeit der Ruhe würde wieder Bewegung in das „negative" Fadenstück kommen. Zunächst würde die erste an die Indifferenzzone grenzende Platte aus der Profilstellung herausrücken und zur Flächenstellung übergehen; alsdann die nächst stärker beleuchtete Platte usw. Die negative Zone würde also zunehmend kürzer werden, die positive dagegen entsprechend länger, und beide wären *von einer langsam nach höheren Intensitäten zu wandernden Zone getrennt, in der die Platten in Bewegung sind, um die Profilstellung mit der Flächenstellung zu vertauschen, in der sie also vorübergehend „schräge" Lagen einnehmen.* Ich habe diesen Modellversuch etwas ausführlicher dargelegt, weil ein Gebiet „schräger" Lagen in der Literatur tatsächlich bereits beschrieben worden ist.

Oltmanns, der als erster dem Verhalten der *Mougeotia* in verschiedenen Intensitätslagen nachgegangen ist, wobei er zur Erzeugung eines kontinuierlichen Helligkeitsgefälles mit Tuscheprismen operierte, kommt zu folgender Feststellung: „Wir sahen, daß bei sehr großer Intensität des Lichtes Profilstellung gegeben ist, wir beobachteten weiter, daß diese Lage bei verschiedenen Intensitäten beibehalten wird, solange eine gewisse untere Grenze nicht überschritten wird. Ist dies aber erfolgt, so beginnt die Platte *Schrägstellung* (vom Verfasser hervorgehoben) . . . bei einer gewissen Intensitätslage nimmt die Platte sodann gerade eben Flächenstellung ein" (Oltmanns, 1892, S. 212). Diese Zone „schräger" Einstellung war in Oltmanns' Versuchen sogar ziemlich breit! Denn er fand die ersten Schrägstellungen, „wenn 40—50% des Sonnenlichtes . . . absorbiert werden, sie nähern sich der Flächenstellung aber erst, wenn 80—90% der auffallenden Strahlen in der Tuschegelatine zurückgehalten werden" (S. 213).

Diese Beobachtung und ihre Bestätigung durch Senn (1908, S. 29) haben dazu geführt, daß *Mougeotia* die Befähigung zugeschrieben worden ist, die Platte bei Dauerbeleuchtung und entsprechender Lichtintensität *auch in beliebigen Winkeln zwischen 0 und 90° einstellen zu können!* Das zeigt z. B. die Abb. 2 B auf Tafel I in der Originalarbeit Senns (1908) oder die Darstellung des Falles in verschiedenen Lehrbüchern. Oltmanns sah in dieser Befähigung sogar eine ökologisch außerordentlich wichtige Einrichtung. In diesem Zusammenhang interessiert jedoch nur die Tatsache, daß ein *beobachtetes* Gebiet schräger Lagen ganz entscheidend anders gedeutet worden ist, als es nach der eingangs theoretisch geforderten Zone schräger *Übergangsstellungen* zulässig erscheint. Es soll hier nun nicht untersucht werden, ob bei *Mougeotia* eine andere als Flächen- und Profilstellung als *End*ergebnis einer phototaktischen Reaktion überhaupt möglich ist. Es sei einstweilen nur hervorgehoben, dies

aber mit Nachdruck, daß eine solche Befähigung, wie sich zeigen läßt, aus den hinter den Tuscheprismen angestellten Versuchen noch keineswegs mit Notwendigkeit gefolgert werden darf. Einer solchen Deutung stehen vielmehr mehrere Gründe ernstlich im Wege.

Was zunächst die Ursache betrifft, die in OLTMANNS' und SENNS Versuchen zur vermeintlichen Schrägstellung geführt hat, so haben die Tuscheprismen hier offenbar eine ähnlich verhängnisvolle Rolle gespielt, wie das schon einmal der Fall war, als sie nämlich zur Untersuchung der Phototaxis freibeweglicher Einzeller herangezogen wurden. Es kann hier der Hinweis genügen, daß BUDER (1917) bei Untersuchung der Phototaxis grüner Flagellaten den eigentlichen Grund ihres prinzipiellen Versagens erkannt hat, nämlich die bei diffusem Licht hinter den Keilen gegebenen besonderen Lichtverhältnisse. Einzelheiten müssen aus der erwähnten Arbeit BUDERS ersehen werden. Ihr habe ich Abb. 16a entnommen, da sie bestens zum Ausdruck bringt, daß ein Organismus hinter einem solchen Tusche-Prisma, wenn man, wie OLTMANNS das tat, im Freien arbeitet, „unter dem Einfluß zahlreicher verschieden gerichteter Büschel steht", die dazu noch von verschiedener Helligkeit sind. Es spielt alsdann „das diffuse Licht neben dem Sonnenlicht eine Rolle, namentlich in den Teilen der Cuvette, die den dunkleren Teilen des Prismas gegenüberliegen. Hier wird das senkrecht einfallende Sonnenlicht durch die dicke Schicht des Keiles weitgehend geschwächt, so daß die schräg von der hellen Seite einfallenden Lichtstrahlen des Himmels eine nicht mehr zu vernachlässigende Komponente sind" (BUDER 1917, S. 201). Da aber für die Phototaxis

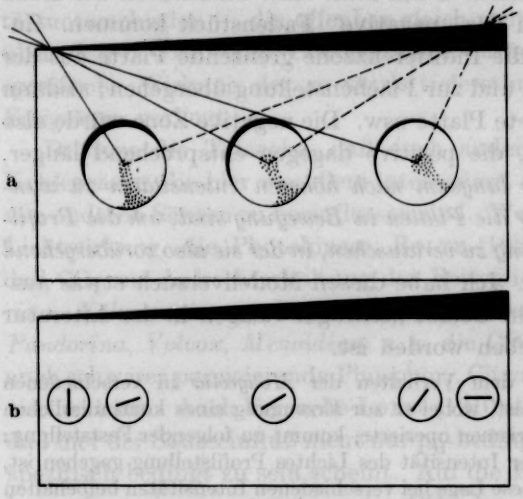


Abb. 16a u. b. a „Schematische Darstellung des Verhaltens negativer Schwärmer (*Carteria* und *Chlamydomonas*) hinter einem von diffusem Licht getroffenen Tuschekeil. Die Kreise entsprechen den Uhrschälchen, in denen die Schwärmer zu bestimmten Zeitpunkten die durch Punktierung angegebene Gruppierung zeigen. Die Zeitpunkte sind so gewählt, daß die eingeschlagene Schwimmrichtung aus der Anordnung der Schwärmer ohne weiteres ersichtlich ist. Die verstärkte Kontur der Kreise entspricht nach Intensität und Lage der Schwärzung, die an gleicher Stelle Zylinder von photographischem Papier erfahren" (BUDER 1917, S. 163, Fig. 6, etwas umgezeichnet). b Schematische Darstellung der in den Versuchen OLTMANNS' offenbar eingetretenen Reaktion der *Mougeotia*. Querschnitte durch 5 Zellen. Die Stellung der Platten dürfte weitgehend der in jenen Versuchen eingenommenen Lagen entsprechen

in jedem Falle die Resultante maßgebend ist, müssen sich in den Versuchen OLTMANNS' und SENNS die *Mougeotia*-Platten an der jeweiligen Resultierenden orientiert haben, d. h. trotz oder gerade wegen sauberer positiver Reaktion der Chloroplasten müssen „schiefe" Lagen zustande gekommen sein und dies besonders hinter den mittleren und dunkleren Teilen des Tuscheprismas! In Abb. 16b habe ich versucht, das Ergebnis des OLTMANNSschen Versuches schematisch darzustellen: Zur Linken scharfe negative Reaktion, zur Rechten die anscheinend nur hier eingetretene Flächenstellung und in der Mitte drei Zellen mit zwar „schräg"-stehenden Platten, was aber in Wirklichkeit ebenfalls eine ausgesprochen *positive* Reaktion bedeutet, nämlich Flächenstellung gegenüber der Resultante der einfallenden Strahlung. (Für die in den drei mittleren Zellen eingezeichnete Chloroplastenstellung waren die in der Abb. 16a dargestellten Beleuchtungsverhältnisse maßgebend. Daher steht hier die Platte jeweils senkrecht auf der in dem entsprechenden Uhrschälchen anzutreffenden Schwimmrichtung der negativen Schwärmer.)

Es kann daher jetzt auch nicht mehr wundernehmen, daß OLTMANNS eine so auffällig breite Zone „schräger" Einstellung erhalten hat, und es ist weiter erklärlich, daß diese Zone so weit in tiefe Intensitätslagen hinabreicht (nach OLTMANNS bis herab zu 10% der Intensität des November-Sonnenlichtes!), während die ideale Indifferenzzone nach meinen Untersuchungen mit genau bestimmten Beleuchtungsstärken, wenn sie überhaupt eine größere Ausdehnung haben sollte, nur sehr schmal sein kann. Das geht aus Abb. 6 hervor, nach der in jenem Versuch noch in 11000 Lux sämtliche Zellen ausgesprochene Flächenstellung aufwiesen, während bereits etwa 23000 Lux einen Profilwert von 100% hervorriefen. Dabei habe ich in diesem Versuch selbst noch in 16650 Lux neben den 20% profilstehender Platten fast nur flächenstehende gesehen, und die wenigen schrägstehenden waren sicherlich stark in Bewegung.

Somit wäre zumindest die in den tieferen Intensitätslagen hinter den Tuscheprismen beobachtete „Schrägstellung" der Platten zwanglos erklärt. Und was den unmittelbar an das Gebiet der scharfen Profilstellung grenzenden Abschnitt der vermeintlichen Schräglagen betrifft, so müssen solche, auch bei einwandfreien Beleuchtungsverhältnissen, an dieser Stelle immer angetroffen werden. Denn hier muß sich, wie eingangs dieses Abschnittes abgeleitet worden ist, bei Dauerbeleuchtung stets eine Zone ständiger Bewegung befinden, in der die Platten solange „schräge" Lage einnehmen, bis ihre anfänglich gelungene oder auch nur angebahnte Profilstellung wieder in Flächenstellung übergegangen ist.

Es kann daher nicht mehr der geringste Zweifel bestehen, *daß die vermeintlichen „schrägen" Lagen in den Versuchen von* OLTMANNS *und* SENN *in Wirklichkeit keine stabilen phototaktischen Einstellungen in Winkeln zwischen 0 und 90° waren.* Es kann sich vielmehr nur um Platten

mit stabiler Flächenstellung gehandelt haben, die sich wegen der hinter den Tuscheprismen gegebenen besonderen optischen Verhältnisse, die die Autoren nicht richtig zu deuten vermochten, als *scheinbare* Schräglagen präsentierten, oder um Platten, die zwar wirklich, aber *nur vorübergehend* schräge Lage einnahmen, weil sie infolge einer Adaptation gerade auf dem Wege zur Flächenstellung waren.

Es fehlt also bis heute noch jeder Beweis für die Annahme, die *Mougeotia*-Chloroplasten könnten im Dauerlicht und damit also auch unter natürlichen Verhältnissen anders als positiv oder negativ phototaktisch reagieren.

IX. Ökologie der Profilstellung

Ein befriedigendes Bild von dem ökologischen Wert der Schutzstellung des *Mougeotia*-Chloroplasten wird sich wohl erst dann zeichnen lassen, wenn auch die photosynthetische Leistung dieses Assimilationsapparates, die ja streng von den phototaktischen Vorgängen getrennt werden muß, besser bekannt ist, und wenn es nicht mehr, wie vorläufig, völlig dunkel ist, an welcher Stelle dieser Assimilationsapparat empfindlich ist. Immerhin läßt sich aber schon jetzt sagen — ohne daß dabei die vorläufig noch ebenso undurchsichtige Bewegungsmechanik berührt wird —, daß es bei *Mougeotia nicht der Intensitätsfaktor allein* sein kann, dem die Zelle durch die Schutzstellung ihrer Chlorophyllplatte zu begegnen sucht. Es beeinflussen ja, wie jetzt feststeht, in nicht zu tiefen Intensitätslagen auch noch die CO_2-Spannung und der Adaptationszustand der Alge ganz entscheidend die Lage des Umschlagspunktes.

Die hohe CO_2-Abhängigkeit aber wäre ökologisch und physiologisch besonders dann bemerkenswert, wenn es sich dabei um eine spezifische Wirkung handelte, da gerade ein Zunehmen der CO_2-Spannung sich wie ein Steigen der Lichtintensität auswirkt. Dieser Gleichlauf würde zu der Annahme führen können, daß hier bei stärkerer Bestrahlung ein *Teil*vorgang[1] der Assimilation aus den Fugen gerät, zumal dies in um so tieferer Intensitätslage eintritt, je höher die CO_2-Spannung ist oder je weniger die Alge auf eine Intensitätssteigerung des Lichtes adaptiv vorbereitet ist.

In diesem Sinne ließe sich z. B. die zunächst überraschende Beobachtung auslegen, daß eine durch die verhältnismäßig hohe Intensität von 23650 Lux herbeigeführte Schutzstellung bei fortdauernd gleich starker Bestrahlung schließlich wieder in die am stärksten exponierte Flächenstellung übergeht, wie das in dem der Abb. 7 zugrunde liegenden Versuch bei 90% der Zellen der Fall war. Allerdings

[1] Vielleicht handelt es sich um einen blauempfindlichen Teilvorgang der Assimilation. Denn die Schutzstellung tritt nach Senns Untersuchungen, die ich bestätigen kann, nur in kurzwelligem Licht ein. Da aber die Phototaxis bei *Mougeotia* sicherlich im Dienste der CO_2-Assimilation steht, hat hier die negative Reaktion der Zelle wohl jene auch physiologisch sehr bemerkenswerte ökologische Stellung.

will es zunächst paradox erscheinen, daß gerade dieses Beispiel herangezogen wird, in dem doch schließlich mit der Flächenstellung eine Lage eingenommen wird, bei der jener Teilvorgang der Assimilation noch mehr leiden sollte. Indessen gelingt es durchaus, dieses Verlassen der Schutzstellung auch ökologisch verständlich zu machen. Man braucht nur anzunehmen, daß die bei jener starken Beleuchtung zunächst eintretende lebhafte Assimilation mit zunehmender Beleuchtungsdauer träger wird und daher die schädlichen Nebenwirkungen infolge kompensierender Vorgänge zurückgehen. Für eine solche Annahme sprechen Untersuchungen HARDERS (1930, 1933), die sogar auch für eine Alge *(Cladophora)* gezeigt haben, daß zwischen der Dauer der Beleuchtung und der Assimilationsintensität bemerkenswerte Gesetzmäßigkeiten bestehen. Im Hinblick auf *Mougeotia* ist an den von HARDER aufgedeckten verwickelten Beziehungen gerade die *Leistungssenkung* interessant, die der Assimilationsapparat schon nach unter Umständen weniger als einer Stunde bei Dauerbeleuchtung aufweist; dies um so ausgesprochener, je mehr die Helligkeit über die Intensität der Vorbeleuchtung hinausgeht. Wenn aber bei *Mougeotia* trotz unverändert hoher Einstrahlung allmählich die Bedingungen wegfallen, die eine negative Reaktion erforderlich machen, dann steht einer Flächenstellung ökologisch ja nichts mehr im Wege. Mit dieser Erklärung kann auch das bei unverändert hoher CO_2-Spannung schließlich zu beobachtende Verlassen der Schutzstellung (s. Abb. 10) zwanglos verständlich gemacht werden.

Der hohe ökologische Wert der Schutzstellung dürfte auch daraus hervorgehen, daß die Alge dem bis jetzt noch unbekannten schädlichen photochemischen Prozeß *umgehend* begegnet. Das zeigt sich erstens in zeitlicher Hinsicht an der hohen Drehgeschwindigkeit der Platte: wurde sie doch, wenn ich sehr stark bestrahlte, in oft weniger als 6 min in die Schutzstellung gebracht; zweitens auch daran, daß keineswegs volles Sonnenlicht, dessen schädigende Wirkung in der Literatur bisher allein betont wurde, nötig ist, um die Schutzstellung herbeizuführen. Es seien daher noch die Lage des Umschlagspunktes und einige Ermittelungen über die Stärke des unmittelbaren Sonnenlichtes gegenübergestellt.

1. Profilstellung und Sonnenlicht

Die vorhergehenden Abschnitte haben gezeigt, daß eine Profilstellung *aller* Platten einer *Mougeotia*-Locke gewöhnlich erst bei Intensitäten von 20000 Lux und darüber eintritt. Man könnte hieraus schließen, normalerweise sei unmittelbares Sonnenlicht nötig, um Profilstellung herbeizuführen. Doch habe ich einmal an einer zudem fadenreichen *Mougeotia*-Locke (Leitungswasser-Präparat) nach Beleuchtung mit diffusem Tageslicht von nur 1750 (!) Lux einen Profilwert von vollen 40% beobachtet. Wie weit diese Helligkeit von der des unmittelbaren Sonnen- und Himmelslichtes entfernt sein kann, mag daraus hervorgehen, daß ich sogar noch im September an einem klaren Tage gegen 11 Uhr für die Helligkeit des unmittelbaren Sonnen- und Himmelslichtes einen Wert von 112500 Lux gefunden habe (gemessen mit „Multiflex-Beleuchtungsmesser nach Dr. B. LANGE").

2. Lichtverhältnisse am Standort der verwendeten Mougeotia

Daß der Umschlagspunkt im Vergleich zur Intensität des unmittelbaren Sonnenlichtes verhältnismäßig tief liegt, hängt sicherlich mit der mäßigen Helligkeit zusammen, in der sich die von mir verwendete *Mougeotia* entwickelt hat, falls *Mougeotia* nicht grundsätzlich eine Schwachlichtpflanze ist.

Die Alge wuchs in einer Wassertonne von 70 cm Durchmesser und 55 cm Höhe, die in der NW-Ecke eines niedrigen, in NS-Richtung gelegenen Gewächshauses stand. An hellen Tagen war das Haus stets schattiert: In den Sommermonaten dieses Jahres gedieh die Alge hier üppig nur an der oberen Innenseite des Südrandes der Tonne, also an der Schattenseite, die niemals von unmittelbarem Sonnenlicht getroffen wurde (gegen den Herbst zu entwickelte sie sich in diesem Jahre allerdings auch noch am besonnten Grunde der Tonne). Die gesamte *Nord*-seite der Tonne jedoch, die an klaren Tagen wenigstens einige Stunden in unmittelbarem Sonnenlicht lag, war im Sommer so gut wie frei von *Mougeotia*-Fäden, während im Frühjahr gerade und fast ausschließlich diese Lichtseite dicht besiedelt, ja, geradezu bärtig behangen war. Im Sommer stand also sogar schon die durch Schattieren stark geschwächte direkte Sonnenstrahlung einer üppigen Entwicklung im Wege.

Das *Lichtklima* am Standort der Alge sei noch genauer durch eine relative Lichtmessung gekennzeichnet, die ich an einem klaren Septembertag gegen 11 Uhr durchgeführt habe (unter Verwendung des photoelektrischen Luxmessers „Parvux" der Firma Gossen, Erlangen, und Vorschaltung eines mit dem gleichen Tageslicht geeichten Grauglases). Beim Messen im schattierten Gewächshaus achtete ich sorgsam darauf, daß die lichtempfindliche Schicht auch wirklich voll dem unmittelbar einfallenden Licht ausgesetzt und sie nicht durch einen Stab des Schattierungsvorhanges teilweise beschattet war. Zur erwähnten Zeit betrug die Helligkeit des Sonnen- und Himmelslichtes im Freien 112500 Lux, im Gewächshaus am Nordrand der Tonne (unter Wasser!) dagegen 13750 Lux, und am Südrand der Tonne, der Schattenseite also, wo der Lichtmesser unter Wasser nur von dem von oben einfallenden schwachen diffusen Licht getroffen wurde, ergab sich bei dieser Stichprobe ein mittlerer Wert von nur 1400 Lux. Vom maximalen Freilicht erreichte die Alge also nur 12,2% (am besonnten Standort) bzw. 1,2% (an der Schattenseite)! Kein Wunder also, daß eine Schutzstellung aller Zellen bei diesem Material im Sommer normalerweise schon bei Intensitäten von rund 20000 Lux eintrat.

X. Besprechung der Hauptergebnisse

In den vorstehend mitgeteilten Untersuchungen ist gefunden und exakt bewiesen worden, daß die Flächen- oder Profilstellung des

Mougeotia-Chloroplasten nicht nur von der *Intensität* der Beleuchtung abhängt. Vielmehr sprechen in einem bestimmten, noch nicht näher abgegrenzten Intensitätsbereich die *Dauer* der Beleuchtung ganz entscheidend mit, ferner, was hiermit wohl unmittelbar zusammenhängt, die *Vorbeleuchtung* und schließlich der CO_2-*Gehalt* des Mediums. Mit der bis zu einem gewissen Grade gelungenen Klärung des Einflusses aller dieser Faktoren ist das Ziel der vorliegenden Arbeit erreicht. Denn für die weitere experimentelle Untersuchung der *Mougeotia*-Phototaxis, vor allem ihrer Mechanik, ist damit eine erste quantitative Grundlage geschaffen. Es soll zum Schluß noch von der gewonnenen neuen Basis aus untersucht werden, ob den Ergebnissen eine über den Einzelfall hinausgehende Bedeutung zukommt.

Was die noch völlig undurchsichtige Physiologie der *Chromatophorenverlagerung* betrifft, so dürfte das wichtigste Ergebnis die Beobachtung sein, daß der Umschlagspunkt bei *Mougeotia* keine feste Lage hat. Die negative Reaktion kann sogar in einem überaus breiten Intensitätsintervall eintreten, da neben dem Licht auch noch andere äußere Faktoren — wie die CO_2-Spannung — den Reaktionssinn mitbestimmen, und die Lichtstimmung im Zusammenhang mit Adaptationsvorgängen einem auffällig raschen Wechsel unterliegt. Dies ist besonders im Hinblick auf gegenteilige Angaben über die bisher allein genauer untersuchte Chloroplasten-Phototaxis des Mooses *Funaria* bemerkenswert. Nach Voerkels Untersuchungen ist z. B. „die Vorbeleuchtung (Stimmung) ohne Einfluß" (1934, S. 202) und die Chloroplastenbewegung allein von der Energie des Lichtes der wirksamen Strahlung abhängig. Aber es ist nicht wahrscheinlich, daß gerade *Mougeotia* mit ihrer ausgesprochen variablen Lichtstimmung die Ausnahmestellung eines Einzelfalles einnimmt. Ein Mechanismus, der Chromatophoren verlagert, muß um so sinnvoller arbeiten, je besser er auf den offenbar sehr empfindlichen Assimilationsapparat abgestimmt ist. Die assimilatorische Leistung aber ist, wie Harder (1930, 1933) gezeigt hat, nicht bloß von der Intensität der Beleuchtung abhängig, sondern noch von mannigfachen anderen Faktoren, ja, sie wird weitgehend „auch durch innere, plasmatische Faktoren geregelt" (Harder 1933, S. 726). Es könnte also nicht überraschen, wenn bei der lichtinduzierten Verlagerung der Chromatophoren ein ganzer Komplex von Vorgängen in recht verwickelter Weise ineinandergreift. Außerdem ist gerade mit der Entdeckung der sehr veränderlichen Stimmung der *Mougeotia* ein weiterer Anschluß der Chromatophoren-Phototaxis an die so leicht umstimmbare Phototaxis der freibeweglichen Organismen gewonnen. Schon Jacobsen (1910) nennt mehrere Faktoren, die die Lichtstimmung phototaktisch reagierender einzelliger Algen beeinflussen. Er zählt hierzu den Sauerstoff, die Temperatur und die Lichtintensität, in der sich der Organismus entwickelt hat. Das sind

Faktoren, deren Wirksamkeit später noch bei einer ganzen Reihe von Objekten gefunden worden ist, und deren Einfluß — wenigstens zum Teil — nunmehr auch für *Mougeotia* bekannt ist. Es sei nur an die Versuche des Abschnittes VII erinnert, nach denen sich der Umschlagspunkt bei Adaptation oder bei Änderung bestimmter Gasverhältnisse des Mediums rasch verschiebt.

Gerade bei diesen Versuchen zeigt es sich, daß *Mougeotia* ein überaus günstiges Objekt für die Erforschung der Chromatophoren-Phototaxis ist und ein über den Sonderfall hinausreichendes Interesse verdient: Eine ganze Reihe von Faktoren, die im Hinblick auf einen etwa umstimmenden Einfluß zu untersuchen sind, lassen sich bei *Mougeotia* quantitativ und durch einen einfach durchführbaren, raschen Wechsel des Mediums plötzlich an die Zelle heranbringen. Auch macht es bei *Mougeotia* keine Schwierigkeiten, z. B. nach einem Säurezusatz, die ursprünglichen Verhältnisse fast augenblicklich und genau wiederherzustellen, was sich nicht einmal in Versuchen mit Protisten durchführen läßt. Außerdem kommt hinzu, daß die Phototaxis der *Mougeotia* keinerlei chemischen Einflüssen solcher Art unterliegt, wie sie im parenchymatischen Zellverband erwiesenermaßen wirksam sind; und daß nicht zuletzt die verhältnismäßig einfachen Bauverhältnisse der Cylinderzelle ein erfolgreiches Experimentieren erlauben.

Die Chromatophoren-Phototaxis schien bisher schwer zugänglich zu sein. Sie stützte sich deshalb überwiegend auf Kenntnisse, die an freibeweglichen Einzellern gewonnen worden sind. So sind seit SENNS grundlegendem Werke über „Die Gestalts- und Lageveränderungen der Pflanzenchromatophoren" aus dem Jahre 1908 kaum ein Dutzend Arbeiten über die Chromatophoren-Phototaxis erschienen, dagegen eine umfangreiche Literatur über die phototaktischen Richtungsbewegungen freibeweglicher pflanzlicher sowie tierischer Organismen. Es seien, um nur Untersuchungen des letzten Jahrzehnts zu erwähnen, die zahlreichen Arbeiten von LUNTZ (1935 und frühere Arbeiten) über die Phototaxis grüner Einzelliger oder die Untersuchungen von MAINX (1929, 1939) über die Abhängigkeit der phototaktischen Stimmung von Außenfaktoren erwähnt. Vielleicht, daß sich jetzt dieser Schwerpunkt zugunsten der Chromatophoren-Phototaxis verschiebt.

Aber auch eine *allgemeine Förderung* gewisser *phototaktischer Probleme* durch *Mougeotia* darf erwartet werden. So liegt eine allgemeine Förderung schon in der Feststellung, daß die Lichtstimmung der *Mougeotia* stark von der CO_2-Spannung des Mediums abhängt, einem Faktor, dem in der phototaktischen Literatur noch nicht die ihm offenbar zukommende Rolle eingeräumt worden ist. Steht doch dem Falle *Mougeotia* nur noch die Entdeckung LOEBS (1906) zur Seite, daß man durch kleine Mengen Kohlensäure negative Süßwasser-Crustaceen (*Daphnia*,

Gammarus), verschiedene Copepoden [nach SEIFERT (1932) auch noch einige andere Krebse] und, allen voran, negativen *Volvox* positiv machen kann. Zwar verstärkt ein CO_2-Zusatz bei *Mougeotia* gerade die Tendenz zu negativer Reaktion, während sie bei *Volvox* die Positivierung herbeiführt. Das ist aber wohl kein grundsätzlicher Unterschied. Auch freibewegliche Organismen mögen auf ein und denselben Außenfaktor, je nach ihrer ökologischen Stellung oder nur je nach ihrer gerade vorliegenden Stimmung, ganz verschieden ansprechen. So wäre denkbar, daß Faulschlamm- und Klarwasserbewohner unter bestimmten gleichen Lichtverhältnissen auf den gleichen CO_2-Zusatz gerade entgegengesetzt reagieren. Die physiologische Bedeutung der bei *Mougeotia* gefundenen Abhängigkeit der phototaktischen Reaktion liegt also sicherlich nicht allein im *Vorzeichen* der Reaktion, sondern in gleicher Weise darin, daß eine Änderung der CO_2-Spannung *erwiesenermaßen* einen *Wechsel* des *Vorzeichens* herbeiführt.

Somit ist für einen Fall von Chloroplasten-Phototaxis der mitbestimmende Einfluß eines der vielen sonst etwa dafür verantwortlich gehaltenen Faktoren bewiesen, nämlich die Wirksamkeit der Kohlensäure. Für die wenigen anderen Fälle, in denen Gaseinflüsse für ein Umschlagen der phototaktischen Reaktion pflanzlicher Organismen bereits verantwortlich gemacht worden sind, trifft das nicht immer zu; beispielsweise für den Fall der Volvocacee *Chlamydomonas variabilis*. Diese mixotrophe Grünalge verhält sich in der Flüssigkeit der Faulkultur positiv; nach Übertragung in reines frisches Wasser reagiert sie jedoch streng negativ phototaktisch. JACOBSEN (1910) möchte dieses Umschlagen, wie BUDER (1917, S. 188) bemerkt, „auf den Sauerstoffgehalt des Mediums zurückführen, der in beiden Teilen freilich außerordentlich verschieden ist . . . Ob es aber lediglich der Mangel an O_2 oder der Überschuß an CO_2 oder die Anwesenheit bestimmter anderer Körper ist, die die positive Reaktion in der Kulturflüssigkeit bedingen, muß einstweilen dahingestellt bleiben"!

Zusammenfassung

1. Es wurde untersucht, welche Weißlichtintensität die Profilstellung des *Mougeotia*-Chloroplasten herbeiführt. Zur Bestimmung des Umschlagspunktes dienten Versuche mit einfachen Objektträgerpräparaten, aber auch solche mit besonderen Kammern, die es erlaubten, die Phototaxis in strömendem Wasser und damit bei Konstanz der Gasverhältnisse zu untersuchen.

2. Die älteren, mehr qualitativen Angaben über die unterschiedliche Wirkung „höherer" und „mittlerer" Intensität haben sich, was das Eintreten von Profil- bzw. Flächenstellung betrifft, bestätigt. Doch hängt die Lage des Umschlagspunktes nicht nur von der Intensität der Beleuchtung ab. Profilstellung, d. h. negative Reaktion, kann vielmehr in

einem sogar breiten Intensitätsintervall eintreten, in dem neben der Dauer der Beleuchtung auch noch die Vorbeleuchtung und der CO_2-Gehalt des Mediums entscheidend mitspielen: Bei längerer Verdunkelung oder Erhöhung des CO_2-Gehaltes steigt die Tendenz zur Profilstellung; umgekehrt verschiebt eine längere Beleuchtung den Umschlagspunkt gerade nach höheren Intensitäten zu. *Mougeotia* adaptiert sich also an die Helligkeit ähnlich dem menschlichen Auge.

3. Im Zusammenhang mit Adaptationsvorgängen unterliegt die Lichtstimmung der *Mougeotia* einem verhältnismäßig raschen Wechsel.

Selbst eine geringe Änderung der CO_2-Spannung kann in einer Umstimmung zum Ausdruck kommen. Das zeigt die Beobachtung eines „Randeffektes". Dieser tritt in abgeschlossenen Präparaten mit Sicherheit, bei strömendem Medium mitunter auf. Er besteht darin, daß sich in einem „kritischen" Intensitätsbereich an der Peripherie einer *Mougeotia*-Locke ein vom Zentrum abweichender „Profilwert" (Hundertsatz profilstehender Platten, vgl. S. 7) einstellt.

4. Unentschieden bleibt, ob der negativierende Einfluß der CO_2 hier spezifisch oder p_H-bedingt ist. Einerseits blieb selbst eine bis zum p_H 3,2 gehende Ansäuerung des Breslauer (Leitungs-)Wassers mit Citronensäure ohne Wirkung. Höhere Säuregrade wurden nicht auf einen etwaigen umstimmenden Einfluß untersucht. Auch bis zum p_H 4,8 führende Zusätze von Salz- und Oxalsäure waren ohne Einfluß. Andererseits führte aber Essigsäure (untersucht bis herunter zum p_H 5,4) — und dies schon bei verhältnismäßig niederen Intensitäten (4000 Lux) — Profilstellung herbei. Gerade die CO_2-Abhängigkeit des Umschlagspunktes scheint physiologisch und ökologisch von besonderem Interesse.

5. Eine Profilstellung aller Platten einer *Mougeotia*-Locke, also ein Profilwert von 100%, trat bei etwa 20000 Lux ein, wenn abgestandenes Breslauer Leitungswasser und an mäßige Helligkeit adaptiertes Material verwendet wurde. Unter bestimmten anderen Bedingungen kam es jedoch schon bei einer vielfach geringeren Intensität zu einem hohen Profilwert. So wurde einmal bei nur 1750 Lux ein Profilwert von 40% beobachtet.

6. Die Versuche von OLTMANNS, die dazu geführt haben, daß den *Mougeotia*-Chloroplasten die Befähigung zugeschrieben worden ist, auch eine Schräglage zur Lichtrichtung (also zwischen 0 und 90°) als endgültige Einstellung anzunehmen, finden in einer anderen Deutung zwanglose Erklärung. Es fehlt jeder Beweis für die Annahme, daß *Mougeotia* in Dauerlicht anders als mit Flächenstellung oder Profilstellung phototaktisch reagieren kann.

7. Die vorstehend ermittelten Beziehungen vertiefen unsere Kenntnis der *Mougeotia*-Phototaxis wegen der gefundenen sehr variablen Lichtstimmung — bis zu einem gewissen Grade — quantitativ. Außerdem

verknüpfen sie die Phototaxis der Chromatophoren hinsichtlich bestimmter Reizvorgänge noch enger mit der Phototaxis freibeweglicher Organismen, als dies die schon bekannten Berührungspunkte bereits vermocht haben. Die Mechanik der Phototaxis des *Mougeotia*-Chromatophors wird in der vorliegenden Arbeit noch nicht berührt.

Literatur

Bolte, E.: Über die Wirkung von Licht und Kohlensäure auf die Beweglichkeit grüner und farbloser Schwärmzellen. Jb. wiss. Bot. **59**, 287—324 (1920). — Buder, J.: Zur Kenntnis der phototaktischen Richtungsbewegungen. Jb. wiss. Bot. **58**, 105—120 (1917). — Harder, R.: Über die Assimilation der Kohlensäure bei konstanten Außenbedingungen. I. Planta (Berl.) **11**, 263—293 (1930). — II. Planta (Berl.) **20**, 699—733 (1933). — Jacobsen, H. C.: Kulturversuche mit einigen niederen Volvocaceen. Z. Bot. **2**, 145—188 (1910). — Lewis, Fr. J.: The action of light on Mesocarpus. Ann. Botany **12**, 418—421 (1898). — Loeb, J.: Über die Erregung von positivem Heliotropismus durch Säure, insbesondere CO_2. Arch. ges. Physiol. **115**, (1906). — Chemische Konstitution und physiologische Wirksamkeit von Alkoholen und Säuren. II. Biochem. Z. **23**, 93—96 (1910). — Luntz, A.: Über die Regulation der Reizbeantwortung bei koloniebildenden grünen Einzelligen. Arch. Protistenk. **86**, 90—112 (1935). — Mainx, F.: Untersuchungen über den Einfluß von Außenfaktoren auf die phototaktische Stimmung. Arch. Protistenk. **68**, 105—176 (1929). — Mainx, F., u. H. Wolf: Reaktionsintensität und Stimmungsänderung in ihrer Bedeutung für eine Theorie der Phototaxis. Arch. Protistenk. **93**, 105—120 (1939). — Mrugowsky, J.: Untersuchung und Beurteilung von Wasser und Brunnen an Ort und Stelle. Berlin u. Wien: Urban & Schwarzenberg 1941. — Oltmanns, F.: Über die photometrischen Bewegungen der Pflanzen. Flora (Jena) **75**, 183—266 (1892). — Über Phototaxis. Z. Bot. **9**, 257—338 (1917). — Seifert, R.: Raumorientierung und Phototaxis bei anostraken Euphyllopoden. Z. vergl. Physiol. **16**, 111—184 (1932). — Senn, G.: Die Gestalts- und Lageveränderung der Pflanzen-Chromatophoren. Leipzig 1908. — Strasburger, E.: Über die Wirkung des Lichtes und der Wärme auf Schwärmsporen. Jenaer Z. Naturwiss. **12** (1878). — Voerkel, S. H.: Untersuchungen über die Phototaxis der Chloroplasten. Planta (Berl.) **21**, 156—205 (1934).

Nachwort

Die vorstehende Arbeit erschien in Band 34, Heft 2 der Planta (1945). Infolge der Kriegsereignisse ging jedoch die gesamte Auflage dieses Heftes vor der Auslieferung verloren, und nur durch einen glücklichen Zufall sind wir in der Lage, die Untersuchungen Mosebachs erneut veröffentlichen zu können. Da die Ergebnisse dieser Arbeit inzwischen durch nichts an Aktualität eingebüßt haben, war es möglich, die ursprüngliche Form unverändert beizubehalten, und Aufgabe des Unterzeichneten ist es lediglich, gewissermaßen als Ergänzung zur Diskussion auf einige in der Zwischenzeit erschienene Arbeiten hinzuweisen, die der Verfasser zweifellos besprochen hätte, wenn sie zu seiner Zeit bereits bekannt gewesen wären.

Mit der Phototaxis der Chloroplasten von *Mougeotia* hat sich in den letzten Jahren Zurzycki (1953, 1955) befaßt. Die von diesem Autor gefundenen Beleuchtungsstärken für den Umschlagspunkt liegen in der

gleichen Größenordnung wie die von MOSEBACH angegebenen, schwanken aber noch stärker, nämlich mehr als eine volle Zehnerpotenz. Welche Faktoren für diese große Schwankungsbreite verantwortlich sind, wurde hier jedoch nicht untersucht. Lediglich wird die (mit MOSEBACH übereinstimmende) Beobachtung mitgeteilt, daß zu verschiedenen Jahreszeiten eingesammeltes Material verschieden hoch gestimmt ist; außerdem rechnet der Autor damit, möglicherweise verschiedene Ökotypen benutzt zu haben.

Bei anderen Objekten wurde auch die Frage einer Nachwirkung vorangegangener Beleuchtung auf die Chloroplastenbewegung untersucht. Während ZURZYCKA und ZURZYCKI (1954) bei *Lemna* in Übereinstimmung mit den Angaben VOERKELs für *Funaria* (s. S. 3 dieser Arbeit) keinen Einfluß einer mehrstündigen Vorbelichtung fanden, ist nach BABUSKIN (1955) das Lichtklima, in dem die Pflanzen aufgewachsen sind, für die Chloroplastenbewegung bei *Nicotiana* von großer Bedeutung: Bei starker Beleuchtung kultivierte Pflanzen benötigen für die Auslösung der Epi- und Parastrophebewegung (posit. und negat. Phototaxis) höhere Beleuchtungsstärken, sind also höher gestimmt als in schwachem Licht aufgewachsene. Doch muß betont werden, daß es sich dabei um die Wirkung sehr langfristiger Vorbelichtung handelt, deren etwaige morphogenetische Effekte der Verfasser nicht untersuchte.

Die von MOSEBACH beiläufig erwähnte verzögernde Wirkung niederer Temperatur auf die Geschwindigkeit der „negativen" Chloroplastendrehung findet ihre Parallele in den Ergebnissen von ZURZYCKA und ZURZYCKI (1950) an *Lemna* für die Parastrophe-Bewegung (negative Phototaxis), während beim gleichen Objekt die Epistrophe-Bewegung (positive Phototaxis) unerwarteterweise nahezu unabhängig von der Temperatur zu sein scheint.

Wenn MOSEBACH besonders die Parallelen zwischen der Chloroplastenbewegung und der Phototaxis freibeweglicher Organismen betont, so ist eine Untersuchung von BRUCKER (1954) von speziellem Interesse; dieser Autor fand nämlich bei *Lepocinclis* und einigen anderen Flagellaten für die positive Phototaxis eine Erhöhung der Schwelle (d.h. Herabsetzung der Empfindlichkeit) durch Belichtung. Diese so charakterisierte „Stimmungsänderung" ist u. a. abhängig von der Organismendichte, womit eine weitgehende Parallele zum Randeffekt MOSEBACHs gegeben ist; und in der Tat kommt auch BRUCKER zu dem Schluß, daß in seinen Versuchen die Änderung des CO_2-Gehaltes im Medium eine ausschlaggebende Rolle spielt, ohne allerdings die Möglichkeit einer unspezifischen p_H-Wirkung ausgeschlossen zu haben. Während jedoch BRUCKER bei diesen Flagellaten den gesamten Lichteffekt auf eine solche indirekte Wirkung zurückführen kann und daher mit Recht den Begriff „Adaptation" für seine Objekte ablehnt, muß nachdrücklich auf die von

MOSEBACH erbrachten Beweise hingewiesen werden, daß bei der Chloroplastenbewegung neben dieser indirekten auch eine direkte Lichtwirkung auf die Stimmungshöhe vorliegt, die den Begriff der Adaptation rechtfertigt. Vergleiche hierzu im übrigen auch die entsprechenden Abschnitte in den Artikeln „Chloroplastenbewegung" und „Phototaxis der Algen" im „Handbuch der Pflanzenphysiologie", Band 17/1 (Springer-Verlag).

Die von MOSEBACH geforderten quantitativen Untersuchungen über die Intensitätsabhängigkeit von Photosynthese, Chloroplastenbewegung und Schädigung des photosynthetischen Apparates wurden inzwischen von ZURZYCKI (1955, 1957) in Angriff genommen. Gewisse Parallelen zwischen den genannten Vorgängen scheinen sich abzuzeichnen, doch können endgültige Schlüsse noch nicht gezogen werden; insbesondere dürfen auch nicht die Unterschiede in den Aktionsspektren vergessen werden. MOSEBACH selbst weist darauf hin, daß die „negative Phototaxis" nur im Blaulicht zustande kommt; aber auch die „positive Phototaxis", die bei *Mougeotia* durch rotes und blaues Licht ausgelöst werden kann, wird nicht durch Absorption im Chlorophyll vermittelt (HAUPT 1958).

Nach neueren Untersuchungen und Berechnungen erscheint es fraglich, ob die früher angenommene ökologische Bedeutung der Chloroplastenbewegung so allgemeine Gültigkeit besitzt (z. B. ZURZYCKI 1953, SEYBOLD 1955; vgl. auch das Sammelref. HAUPT 1956). Speziell für *Mougeotia* kann allerdings an einer solchen ökologischen Bedeutung nach den Ergebnissen von ZURZYCKI (1955) kaum noch gezweifelt werden.

Summary

MOSEBACH undertook a quantitative study of the light intensity which changes the positive phototaxis of the *Mougeotia* chloroplast into a negative one (this intensity is the so-called „Umschlagspunkt" = UP). The UP has no definite value but depends upon the pre-treatment of the plant. The UP is lowered by pre-darkening and is raised by a few hours or even less of pre-illumination.

This light effect is a double one: a) the UP depends on the concentration of CO_2 in the medium, which of course is influenced by the ratio of respiration and photosynthesis, and b) in running-water experiments there still exists an influence of the pre-illumination on the UP, which must therefore be a direct light effect and which, it is suggested, is an adaptation.

The CO_2-sensitivity of the UP is not an unspecific p_H effect and cannot be duplicated by citric, oxalic or hydrochloric acid. Only acetic acid has a similar effect.

The cases in which the chloroplast is found to be oblique to the light beam are discussed from a new point of view.

This summary is only a very short review by the editor; for further information compare the German summary by the author, page 41.

Literatur

BABUŠKIN, L. N.: Die Adaptation des phototaktischen Apparates der Chloroplasten an die Lichtintensität. Dokl. Akad. Nauk SSSR. **102**, 1215—1218 (1955) [Russisch]. — BRUCKER, W.: Beiträge zur Kenntnis der Phototaxis grüner Schwärmzellen I. Arch. Protistenk. **99**, 294—327 (1954). — HAUPT, W.: Chloroplastenbewegung. Z. Bot. **44**, 455—462 (1956). — Hellrot-Dunkelrot-Antagonismus bei der Auslösung der Chloroplastenbewegung. Naturwissenschaften **45**, 273—274 (1958). — SEYBOLD, A.: Beiträge zur Optik der Laubblätter. Beitr. Biol. Pflanz. **31**, 499—513 (1955). — ZURZYCKA, A., and J. ZURZYCKI: The influence of temperature on phototactic movements of chloroplasts. Acta Soc. Bot. Polon. **20**, 665—680 (1950). — Studies on the phototactic movements of chloroplasts II. Acta Soc. Bot. Polon. **23**, 279—288 (1954). — ZURZYCKI, J.: Arrangement of chloroplasts and light absorption in plant cells. Acta Soc. Bot. Polon. **22**, 299—320 (1953). — Chloroplasts arrangement as a factor in photosynthesis. Acta Soc. Bot. Polon. **24**, 27—63 (1955). — The destructive effect of intense light on the photosynthetic apparatus. Acta Soc. Bot. Polon. **26**, 157—175 (1957).

Doz. Dr. W. HAUPT,
Botanisches Institut der Universität Tübingen, Wilhelmstr. 5

Planta, Bd. 52, S. 47—64 (1958)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Heidelberg

PHYSIOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN ÜBER EINIGE FLAVONOIDE UND OXYZIMTSÄUREN

I. AUSWAHL UND IDENTIFIZIERUNG DER BEARBEITETEN STOFFKOMPONENTEN

Von

ROSMARIE URBAN

Mit 12 Textabbildungen

(Eingegangen am 10. April 1958)

I. Einleitung

Die aufschlußreichen Monographien von K. FREUDENBERG (1933) und K. PAECH (1950) haben erneut die Aufmerksamkeit auf die Biochemie und Physiologie der sekundären Pflanzenstoffe gelenkt.

Zur Definition der „sekundären Stoffe" sei das Folgende im Hinblick auf die Fragestellung vorliegender Arbeit vorausgeschickt:

Der Terminus „Sekundäre Pflanzenstoffe" geht auf CZAPEK (1922) zurück. Nach ihm versteht man hierunter „Stoffe, bei deren Bildung es sich um Prozesse handelt, die nicht jedem Zellplasma eigen sind, sondern mehr sekundären Charakter haben". Zwangsläufig wäre damit eine Scheidung des gesamten Stoffwechsels der Pflanze in einen Haupt- und Nebenstoffwechsel gegeben. Sind wir jedoch in der Lage, solche scharfen Grenzen zu ziehen? Nach PAECH (1950) z. B. ist der Säurestoffwechsel von dieser Warte aus gesehen als ausgesprochenes Übergangsgebiet zu betrachten: „... als eine Art Rangierbahnhof, von dem aus bekannte Geleise mindestens zum Eiweißstoffwechsel, wahrscheinlich aber noch zu anderen Stoffwechselsphären führen". — Von KOSTYTSCHEW (1931) ist der Begriff „Sekundäre Pflanzenstoffe" insofern modifiziert worden, als er die Kohlenhydrate, Aminosäuren und Eiweiße als das primäre Bau- und Betriebsmaterial der Zellen auffaßt, aus dem auf zahlreichen verschiedenen, heute meist noch unbekannten Umwandlungswegen sekundär alle die übrigen Pflanzenstoffe entstehen. Diese Einteilung ist unbefriedigend, da sie — um nur ein markantes Beispiel zu nennen — die Glieder des wichtigsten energieliefernden Grundstoffwechselvorgangs — die Säuren des Tricarboxylsäure-Cyclus — definitionsgemäß den „sekundären Stoffen" zuteilt, wohingegen die als Gerüstmaterial fungierende Cellulose, über deren sekundären Charakter meist kein Zweifel besteht, als Kohlenhydrat zu den primären Stoffen zählt. Versuchen wir — neueren Erkenntnissen entsprechend — in Anlehnung an REZNIK (1956) folgende Definition: „Als Stoffe sekundären Charakters sind alle diejenigen pflanzlichen Substanzen zu bezeichnen, die nicht mehr unmittelbar am Grundstoffwechsel beteiligt sind, teilweise sogar aus jeglichem Zellstoffwechsel endgültig ausscheiden", wie etwa das Lignin.

Mit dieser Definition wird es nun allerdings nötig, die sekundären Pflanzenstoffe in ihrer physiologischen Rolle im Organismus genau zu kennen, um sie ihrer Funktion nach einstufen zu können. Dies ist nach unserem heutigen Wissen jedoch erst in wenigen Fällen möglich. In

vorliegender Arbeit wurde beabsichtigt, die Stellung einer speziellen Gruppe der sekundären Pflanzenstoffe im Rahmen des allgemeinen Sekundär-Stoffwechsels zu klären.

Der große Reichtum an sekundären Stoffen ist ein Charakteristikum der pflanzlichen Organismen. Der allgemeine Stoffwechsel (Kohlenhydratabbau, Eiweißumsatz) verläuft bei Tieren und Pflanzen in ganz ähnlichen Bahnen, ja auf weite Strecken hin sogar völlig identisch. Erst im Anschluß an diese primären Vorgänge setzen biochemische Differenzierungsprozesse ein, und in ihrer Ausgestaltung und ihrem Ausmaß zeigt sich der pflanzliche Organismus, vor allem der autotrophe, dem tierischen weit überlegen.

Die Produktion der heute bereits unübersehbar gewordenen Fülle von sog. „sekundären Pflanzenstoffen" — zu denen zahlreiche Pigmente, Alkaloide, Terpenoide, Lignine etc. gerechnet werden — läßt sich als spezifisch pflanzliche Form der Exkretion deuten. Im Gegensatz zum Tiere ermangeln Pflanzen zentraler Exkretionssysteme und weniger einfacher Exkretstoffe. Mit einem großen Aufgebot verschiedenster Fermente leistet die Pflanze ihre Schlackenentgiftung und Schlackenbeseitigung durch die, von REZNIK (noch unveröffentlicht) als „membranotrop" und „chymotrop" bezeichnete Exkretion. Die Unmöglichkeit, die anfallenden Schlacken aus dem Pflanzenkörper in einer dem Tiere vergleichbaren Weise zu entfernen, führt nach REZNIK (1956) „zu einer eindrucksvollen biochemischen Differenzierung dieser als Entgiftungsmechanismus zu deutenden abbausymptomatischen Synthesen".

Fast ebenso problematisch wie die „sekundären Pflanzenstoffe" streng definieren zu wollen, ist es, ihr weites Gebiet eindeutig zu umreißen und in ein „natürliches System" zu bringen. „Ein System zusammenhängender Reaktionen in den Zellen aufzufinden" — wie es PAECH als Ziel vorschwebte — „und aus ihnen eine Art Stammbaum der Stoffumwandlungen zu errichten, an dessen Ästen die in den Pflanzen vorgefundenen Substanzen als Früchte der chemischen Fähigkeiten hängen". Doch wie er seinen Vergleich einschränkend fortfährt: „Das Bild eines Stamm*baumes* trifft die vermuteten Beziehungen nur bis zu einem gewissen Grade; ... die chemischen Prozesse streben nicht von einigen wenigen Wurzeln ausgehend und sich verästelnd immer weiter auseinander. Die Kanäle, in denen die Umsetzungen verlaufen, sind vielfältig miteinander verquickt, da Zwischenprodukte der verschiedenen Reaktionsketten untereinander reagieren". PAECHS Ansatz zu einem solchen „natürlichen System" umfaßt nach heutigem Wissensstand die folgenden Klassen sekundärer Pflanzenstoffe:

1. Die niederen aliphatischen Säuren,
2. die fetten Öle (pflanzlicher Fettstoffwechsel),
3. die Terpene und ihre nächsten Abkömmlinge,
4. Die stickstofffreien aromatischen Verbindungen,
5. Die stickstoffhaltigen sekundären Pflanzenstoffe (die Verwandten der Aminosäuren).

Wenden wir uns speziell der 4. Klasse zu, so ergibt sich hier eine Untereinteilung in einerseits die hydroaromatischen Verbindungen — etwa Inosit und Chinasäure — andererseits die Phenole (Phloroglucin etc.), die Phenylpropanabkömmlinge (mit

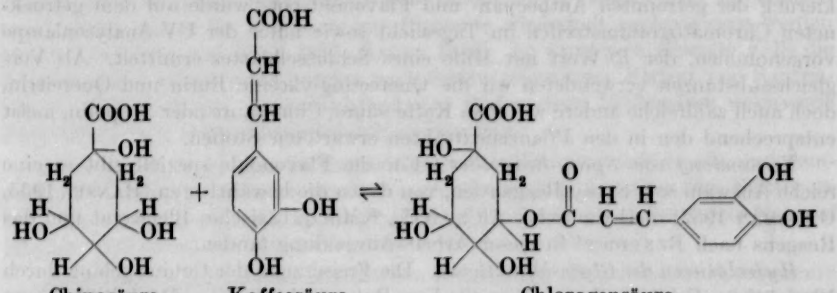
den Zimtsäuren und den Ligninen), die Verbindungen mit kondensierten Benzolkernen (Naphthalinderivate und Anthrachinonderivate) und ferner die große Zahl der Flavanabkömmlinge.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die letztgenannte Gruppe untersucht. Wenn auch nur einzelne ihrer Vertreter für die experimentelle Bearbeitung herangezogen werden konnten, galt es doch stets, über eine isolierte Betrachtung hinaus den Metabolismus im Zusammenhang mit dem anderer verwandter Stoffe zu beobachten.

Die strukturelle Verwandtschaft zwischen den Flavonoiden und den Phenylpropanen — beides Stoffgruppen von weiter Verbreitung im Pflanzenreich — hat zu der Auffassung geführt, daß zwischen diesen beiden Gruppen auch biogenetische Beziehungen bestünden.

Eingehende und kritische Diskussionen über diesen Punkt finden sich bei Blank (1947), Paech (1950) und Geissman and Hinreiner (1952). Hier sei nur kurz auf das von Reznik (1956) entworfene Biosyntheseschema hingewiesen, in welchem die vermuteten — zum Teil auch schon experimentell bestätigten — Stoffwechselbeziehungen zwischen Kohlenhydraten und Flavonoiden dargestellt sind.

Im Hinblick auf die von uns bearbeiteten sekundären Stoffe sei die Kaffeesäure wegen ihrer zentralen Stellung in der Flavonoidsynthese hervorgehoben und die Möglichkeit des Vorhandenseins einer stabileren Speicherform in der Chlorogensäure, einem Depsid aus Kaffeesäure und Chinasäure, erwogen (Paech, K., und H. Ruckenbrod 1953; Ruckenbrod, H. 1955; Herrmann, K. 1956).



II. Methodisches

1. Versuchsobjekte

Die folgenden Pflanzen wurden zu unseren Experimenten als Versuchsobjekte ausgewählt:

Hedera helix, L. als winterhartes, perennierendes Gewächs; *Helianthus annuus*, L. als annuelle dicotyle Pflanze; *Zea mays*, L. und *Triticum vulgare*, Vill. als Vertreter annueller monocotyler Pflanzen.

Bei *Hedera helix* ließen sich zu den Versuchen Exemplare verschiedener Standorte in und um Heidelberg verwenden. Bei *Helianthus*, *Zea mays* und *Triticum*

wurde das benötigte Pflanzenmaterial im Botanischen Garten der hiesigen Universität sowohl in Treibhaus- als in Freilandkulturen herangezogen. Es wurde hauptsächlich der Flavonolgehalt der Laubblätter bestimmt, die zu diesem Zweck vorher von Stiel und Mittelrippe befreit worden waren. Blütenblätter, Kelchblätter sowie Sproßachse und Wurzel wurden nur in vereinzelten Fällen untersucht.

2. *Papierchromatographie*

Papierchromatographische Methode für qualitative Untersuchungen. Für die leicht bis weniger leicht wasserlöslichen chymochromen Pflanzenpigmente kam eine Kalt-Extraktion des Blattmaterials unter Macerieren mit Methanol zur Anwendung. Von Heißextraktionen in einer Soxhletapparatur wurde mit Rücksicht auf eventuell auftretende Zersetzung von hitzeunbeständigen Substanzen im allgemeinen abgesehen. Der methanolische Rohextrakt konnte nach Einengung im Vakuum unter Stickstoff bei älterem Blattmaterial unmittelbar in der geeigneten, vorher experimentell ermittelten Menge auf das Papierchromatogramm aufgetragen werden. Wir benutzten das reine Linterspapier von Schleicher & Schüll 2043b MGL (120 g/m²) in Streifen von 14,5 × 54 cm. Abstand der Startlinie vom unteren Ende des Bogens: 75 cm; Abstände der einzelnen aufgetragenen Spots untereinander: jeweils 2,5 cm. Entwickelt wurde mit dem Entwicklungsgemisch nach PARTRIDGE, vereinfacht nach NORDSTRÖM (Butanol: Eisessig: Wasser = 6:1:2, einphasig), im absteigenden Verfahren. Die Laufzeit betrug bei 20 ± 1° C 12—14 Std. Chlorophylle, Carotinoide und Xanthophylle zeigten sich hier im Vergleich zu Extrakten aus sehr jungem Blattmaterial, wo sie durch Schwanzbildung die Chromatogrammlinien stark verzerrten, nicht störend, da sie sauber mit der Lösungsmittelfront abwanderten. So war nur bei jungen Blättern eine Abtrennung der plasmochromen Pflanzenpigmente aus dem methanolischen Rohextrakt notwendig (Ausschütteln mit Äther oder Petroläther). Nachfolgende Schritte ermöglichten die Identifizierung der auf chromatographischem Wege getrennten Einzelsubstanzen:

Bestimmung des Rf-Wertes in Verbindung mit Vergleichssubstanzen. Die Markierung der getrennten Anthocyan- und Flavonoidspots wurde auf dem getrockneten Chromatogrammstreifen im Tageslicht sowie unter der UV-Analysenlampe vorgenommen, der R_f-Wert mit Hilfe eines Schlüsselblattes ermittelt. Als Vergleichssubstanzen verwendeten wir die Quercetinglykoside Rutin und Quercitrin, doch auch zahlreiche andere wie etwa Kaffeesäure, Chinasäure oder Scopolin, meist entsprechend den in den Pflanzenextrakten erwarteten Stoffen.

Verwendung von Spray-Reagentien. Für die Flavonoide speziell gibt es eine reiche Auswahl sog. Spray-Reagentien, von denen die bewährtesten (HÄNSEL 1955, GEISSMAN 1952) methanolisches $AlCl_3$, NH_3, $KMnO_4$, basisches Bleiacetat und das Reagens nach BENEDICT[1] in dieser Arbeit Anwendung fanden.

Hydrolysieren der Glycosidfraktionen. Die Freisetzung der Genine gelang durch 10minütiges Erhitzen des methanolischen Rohextraktes unter Rückflußkühlung im Wasserbad bei 100° C mit dem gleichen Volumen 25%iger HCl. Es erübrigte sich ein anschließendes Abdampfen der HCl oder eine Neutralisation des sauren Gemisches, wenn das Hydrolysat zur Erfassung der freigesetzten Aglycone aufsteigend in dem Entwicklungsgemisch nach FORESTAL (Eisessig: Wasser: konz. Salzsäure = 30:10:3) chromatographiert wurde. Der papierchromatographische Nachweis des abgespaltenen Zuckers war allerdings bei den vorliegenden geringen Konzentrationen schwieriger durchzuführen. Für unsere Fragestellung genügte jedoch die Zuordnung eines Glykosides zu einem identifizierten Aglykon.

Aufnahme der Absorptionsspektren. Auf papierchromatographischem Wege gelang es, Einzelkomponenten von den übrigen Begleitstoffen soweit zu trennen,

[1] Na-Citrat, $Na_2CO_3 \cdot 1\ H_2O$ und $Cu(II)SO_4$, gelöst in Wasser.

daß sich eine befriedigende spektroskopische Prüfung vornehmen ließ. Wir trugen in unseren Versuchen nach der von HÄNSEL und HÖRHAMMER (1954) angegebenen präparativen Bogenmethode den pflanzlichen Rohextrakt hierzu nicht wie üblich als Einzelspots, sondern als Streifen auf die Startlinie des Chromatogrammes auf, entwickelten, markierten die Einzelkomponenten in ihrer Front und schnitten diese Bezirke sauber aus dem Chromatogramm aus. Mit Hilfe eines Mikroextraktors wurde die Substanz mit Methanol aus dem Papier eluiert und in geeigneter Konzentration zu den spektroskopischen Messungen verwendet. Die Aufnahme der Absorptionskurven bzw. Transmissionskurven sind mit der Sekundärelektronen-Vervielfachereinrichtung des UNICAM Spektrophotometers SP 500 vorgenommen worden.

Die Spektra von Flavonoiden sind im allgemeinen wenig geeignet, Aglykone von Glykosiden oder einzelne Glykoside voneinander zu unterscheiden. Nach Angabe von GAGE und WENDER (1950), HARBORNE (1954) und HÖRHAMMER (1954) lassen sich aber zur Differentialdiagnose die spektralen Verschiebungen nach Bildung von Metallkomplexen heranziehen. So setzt durch Zugabe geringer Mengen von $AlCl_3$ ein bathochromer Vorgang ein, der als Chelatbildung zu deuten ist. Bei der Aufnahme unserer Absorptionsspektren wurde diese Chelatbildung berücksichtigt. Wir erzeugten sie durch Zugabe von 3—5 Tropfen einer 5%igen methanolischen $AlCl_3$-Lösung (Konzentration von 0,003—0,01% in Methanol p. a.).

3. Auswahl des Blattmaterials

Die richtige Auswahl des Blattmaterials zu vergleichbaren Analysen erfordert eine besondere Beachtung des Lichtfeldes, in dem die Blätter wachsen. Bekanntlich ergaben Lichtmessungen quantitative und qualitative Unterschiede der einzelnen Lichtfelder (SEYBOLD 1934/36, EGLE 1937) und machen es beim Sammeln des Blattmaterials notwendig, zwischen Sonnen- und Schattenblättern zu unterscheiden. Es lag nahe zu vermuten, daß sich der verschiedene Lichtgenuß der Blätter auch in einem unterschiedlichen Gehalt an chymochromen Substanzen manifestiert, wie es für plasmochrome Pigmente wiederholt nachgewiesen werden konnte (SEYBOLD und EGLE 1937; BAUER 1956). So wurden in unserem Falle die freistehenden und mit ihrer Lamina nach Süden orientierten Blätter von Sonnenblumen und Mais dem Sonnenlichtfeld, am Boden eines Laubwaldes wachsende Efeublätter dem Grünschattenlichtfeld zugeordnet.

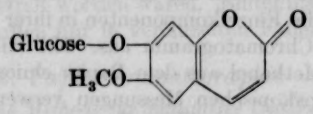
Aber es galt nicht nur die Zugehörigkeit des Blattmaterials zu ein und demselben Lichtfeld zu beachten, sondern auch gleichzeitig das Alter der Blätter zu berücksichtigen, um für die zu vergleichenden Analysen ein einheitliches Material erfassen und damit eindeutige Ergebnisse erzielen zu können.

Da bei der Ausbildung der pflanzlichen Inhaltsstoffe die genetische Komponente eine maßgebliche Rolle spielt, kann sie bei der Blattauswahl nicht unberücksichtigt bleiben. Es wurden jeweils nur Blätter von ein und demselben Strauch *(Hedera helix)* oder nur Pflanzen gleichen Saatgutes und unter denselben Bedingungen aufgewachsen *(Helianthus, Zea mays, Triticum)* für die einzelnen Versuchsserien herangezogen.

III. Ergebnisse

Hedera helix: Im methanolischen Extrakt aus Efeublättern war als Hauptflavonoid eindeutig das Flavonol Rutin (Quercetin-3-Rhamnoglucosid) nachzuweisen. Nebenflavonoide, die in sehr geringen Mengen auftraten (Rf-Wert = 0,25 und 0,17), wurden nicht näher berücksichtigt.

Als Polyphenole mit charakteristischer Blau-Fluorescenz im UV-Licht waren Chlorogensäure, Kaffeesäure und das 7-Glucosido-6-methoxy-7-oxycumarin Scopolin zu erfassen.



Scopolin

Bei den Freilandblättern, die den strengen Winter 1955/56 überdauert hatten, traten im März bei noch relativ niedrigen Nachttemperaturen, doch starker Insolation um die Mittagsstunden in größerer Menge ein sogenanntes Kälteanthocyan auf, daß nach dem *Rf*-Wert (0,25—0,30 in BEW), Hydrolyse (*Rf*-Wert = 0,52 in Forestal) und Absorptionseigenschaften als Cyanidin-3-monosid identifiziert wurde.

Blätter von einem an der Nordseite eines Treibhauses des Botanischen Gartens wachsenden Strauch zeichneten sich gegenüber Blättern von Freilandsträuchern durch sehr viel geringere Rutinmengen aus. Wurden von diesem Treibhausstrauch Stecklinge ins Freiland unter Berücksichtigung gleicher Bodenverhältnisse verpflanzt, so nahm in deren Blättern der Rutin-Gehalt rasch zu, bis er dem von Freilandsträuchern etwa gleich kam. Die Sonnenblätter enthielten auch mehr Kaffeesäure als die Schattenblätter.

Quantitative Angaben hierzu sind aus den im folgenden Teil II dieser Arbeit aufgeführten Tabellen ersichtlich.

Im Grünschatten gewachsene Efeublätter eines vegetativen Sprosses zeigten ausschließlich Rutin als vorherrschendes Flavonoid. Bei Sträuchern hingegen, die zur reproduktiven Phase übergingen, auch stärker der Sonne exponiert waren, trat neben Rutin ein zweites Flavonoid auf (*Rf*-Wert = 0,58—60), das wir als Kämpferol-3-Rhamnoglucosid identifizierten. Die Hydrolysate enthielten eindeutig als Aglykone Quercetin und Kämpferol (Abb. 1).

Die beim Efeu in der Heterophyllie zum Ausdruck kommende tiefgreifende Umstimmung (Übergang in die reproduktive Phase) manifestiert sich also auch im Mechanismus der Flavonolbildung. Interessant wäre es, auch bei isophyllen Pflanzen einmal blütennahe Blätter (Hochblätter, Inflorescenzbrakteen) und Blätter der vegetativen Region des Pflanzenkörpers vergleichend unter diesem Aspekt auf ihre Flavonolausstattung hin zu untersuchen. Das Ergebnis, daß nämlich rein vegetativ wachsendes Efeu in seinen Blättern nur das Quercetinglykosid Rutin und beim Übergang in die reproduktive Phase in zunehmender Menge noch Kämpferolglykosid ausbildet, deckt sich mit den Befunden von Roller (1956), der für Laubblätter — als vegetative Pflanzenorgane — in der Hauptsache Quercetinglykoside nachwies, während die

Blütenblätter — als in die reproduktive Phase übergegangene Blattorgane — in überwiegender Zahl Kämpferolglykoside enthielten.

Die bei den quantitativen Versuchen an *Hedera helix* noch eingehender zu verfolgenden Substanzen: Rutin, Scopolin, Kaffeesäure und Chlorogensäure sind in Tabelle 1 mit ihren charakteristischen Daten aufgeführt.

Scopoletin-Glykoside: Da uns kein reines Scopolin als Leitsubstanz für das in unseren Objekten zu identifizierende zur Verfügung stand, im Handel angebotene Präparate unerschwinglich teuer sind (0,5 g = 527,— DM), stellten wir es uns

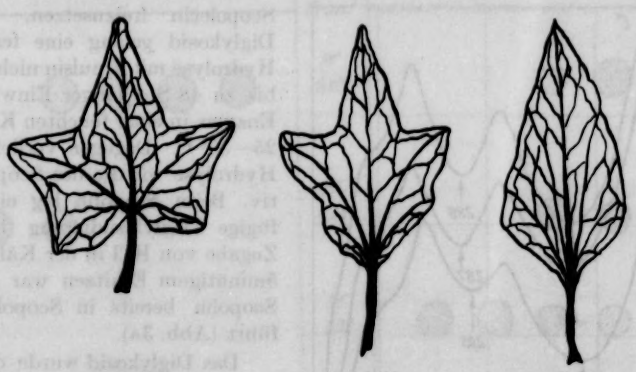


Abb. 1. Abhängigkeit der Flavonolbildung von Belichtung und Entwicklungsstadium der Efeu-Blätter. + vorhanden; – nicht vorhanden

Tabelle 1. *Flavonoide und Zimtsäurederivate aus Hedera helix-Blättern*

Substanz	R_f-Werte in BEW	Unbehandelt		AlCl$_3$ (methan.)		NH_3		Benedicts Reagenz		R_f-Werte nach Hydrolyse in Forestal	Unbehandelt	
		TG	UV	TG	UV	TG	UV	TG	UV		TG	UV
Rutin	0,45—0,50	G[1]	dBr	G	G	G	G	tG		0,42	—	G
Kämpferolglyk.	0,58—0,60	—	Br	fG	G	G	G	G		0,60	—	G
Scopolin . .	0,55—0,57	—	Bl	—	Bl	—	Bl	—	GrG	0,82	—	Bl
Chlorogensäure	0,60—0,64	—	f.Bl	—	Bl	—	Gr	—	Br	—	—	—
Kaffeesäure .	0,75—0,79	—	Bl	—	Bl	—	Bl	—	Br	—	—	—

Zeichenerklärung: Br = braun; Bl = blau; G = gelb; Gr = grün/blau; W = weiß/grau; d = dunkel; f = fahl; t = tief; TG = im Tageslicht; UV = vor der Analysenlampe.

[1] Wenn in größerer Menge vorhanden. Diese Bezeichnungen gelten auch für alle folgenden Tabellen.

durch einen methanolischen Heißextrakt aus den Wurzeln von *Scopolia lurida* und *Scopolia carniolica* her. Chlorogensäure ist, wie aus der Literatur bekannt (POLITIS 1948), nur bei *Scopolia carniolica* aufzufinden. *Scopolia carniolica* sowie *lurida* zeigten aber im Chromatogramm noch eine bislang unerwähnte Substanz neben dem Scopolin und neben seinem Aglykon Scopoletin. Spektroskopisches (Abb. 2) und fluorescenzoptisches Verhalten weisen auf eine nahe Verwandtschaft zu Scopolin hin. Nur der *Rf*-Wert liegt wesentlich niedriger (*Rf*-Wert 0,30—0,35).

Wir vermuten hierin ein Diglykosid des Scopoletins erfaßt zu haben. Aus dem Scopolin war durch saure sowie durch fermentative Hydrolyse mit dem Enzym Emulsin (in wäßriger 0,5%iger Lösung im Acetatpuffer von pH 4,4—5,0 nach EBERHARDT 1955) leicht das Aglykon Scopoletin freizusetzen. Bei dem Diglykosid gelang eine fermentative Hydrolyse mit Emulsin nicht, auch bei bis zu 48 Std langer Einwirkung des Enzyms in einer feuchten Kammer bei 25—30° C. Dagegen verlief die saure Hydrolyse wie die des Scopolins positiv. Beim Scopolin lag eine geringfügige Deglykosidierung bereits bei Zugabe von HCl in der Kälte vor, bei 5minütigem Erhitzen war sämtliches Scopolin bereits in Scopoletin überführt (Abb. 3a).

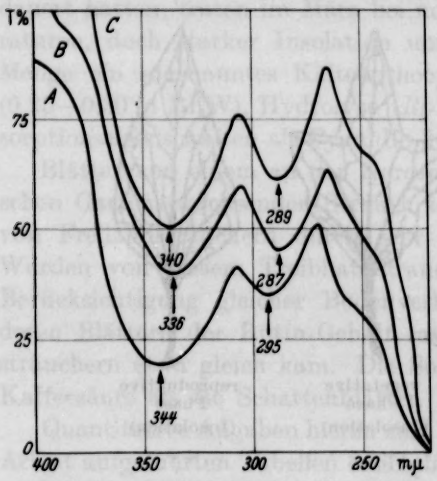


Abb. 2. Transmissionsspektren der Fluorochrome aus Wurzelextrakten von *Scopolia lurida*. *A* = Scopoletin, *B* = Scopolin, *C* = Diglykosid. Methanolische Lösung 0,03%ig

Das Diglykosid wurde dagegen in der Kälte gar nicht angegriffen. Nach 5 und 10 min langem Erhitzen waren neben dem Diglykosid die geringer glykosidierte Stufe des Scopolins und Spuren von Scopoletin zu erfassen. Bei 30 min langer Hydrolyse lag zwar noch immer etwas Diglykosid ungespalten vor, der größte Teil war aber doch nun in Scopoletin überführt worden. Die Zwischenstufe des Scopolins war hier auch gänzlich zu Scopoletin geworden (Abb. 3b).

Daraus ergibt sich, daß das Diglykosid weit schwerer, d. h. nur mit einem größeren Energieaufwand in sein Genin zu verwandeln ist, also eine energetisch stabilere Form als das Monoglucosid Scopolin darstellt.

Scopolin und Diglykosid zeigten sich bei der Aufarbeitung der Extrakte sowie während längeren Verbleibens auf dem entwickelten Chromatogramm wesentlich haltbarer als ihr Genin Scopoletin. Dieses bekannte Verhalten der stabileren Glykoside und instabilen freien Aglykone traf also auch in unserem Falle wieder zu.

Helianthus annuus: Im Samen sowie in jungen Keimlingen von Sonnenblumen trat als vorherrschende Komponente des methanolischen Kalt-Extraktes die Chlorogensäure auf (s. auch PAECH und RUCKENBROD 1953). Neben ihr erschien bei heißen Extraktionen auch Kaffeesäure. Die Kaffeesäure lag aber wohl nicht ursprünglich vor, sondern wurde erst unter den Extraktionsbedingungen aus der Chlorogensäure in Freiheit gesetzt. Spätere Entwicklungsstadien der Keimlinge bzw. die schon ausdifferenzierten Pflänzchen von *Helianthus* zeigten aber auch

bei Kalt-Extraktionen neben der hier an Menge abnehmenden Chlorogensäure freie Kaffeesäure. RUCKENBROD (1955) fand bei etiolierten Sonnenblumenkeimlingen mit steigendem Alter ebenfalls eine abnehmende Chlorogensäure-Konzentration, konnte aber weder Kaffeesäure noch Chinasäure als deren Spaltprodukte nachweisen. Parallel zur Abnahme der Chlorogensäure traten bei den Untersuchungen von RUCKENBROD 3 gelb fluoreszierende Substanzen auf, wahrscheinlich von Flavoncharakter, die wir hingegen nicht beobachteten.

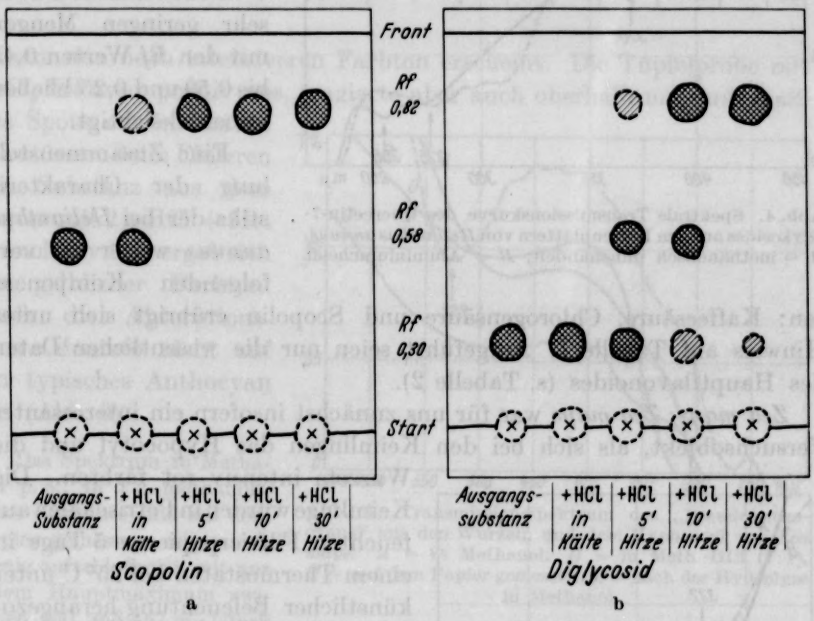


Abb. 3 a u. b. Hydrolytische Spaltung der Glykoside des Scopoletins

Noch ein weiteres blaues Fluorochrom, das dem *Rf*-Wert und seinen sonstigen Erkennungsreaktionen nach als Scopolin anzusprechen war, konnte von uns chromatographisch erfaßt werden. Das in der Literatur für *Helianthus* angegebene Hauptflavonoid (GEISSMAN 1952 und REZNIK 1956), das Flavonol Quercimeritrin, ein 7-Glucosid des Quercetins (*Rf*-Wert um 0,60) war bei unseren Untersuchungen in Laubblättern nicht auffindbar. Nur in den Blütenblättern trat ein 7-Glykosid auf, das durch seine charakteristische Gelb-Fluorescenz auf dem noch unbehandelten Chromatogramm unter der Analysenlampe und durch eine spezifische Absorptionskurve (Abb. 4) erkannt wurde. Mit einem *Rf*-Wert von 0,55—0,60 kennzeichneten wir für die *Helianthus*-Laubblätter die im Folgenden als *Helianthus*-Flavonoid (H_1) aufgeführte Substanz (Abb. 5). In ihren Absorptionseigenschaften weicht die Verbindung von Flavonolen

und Flavonen ab (Maximum I bei 325 mμ, Maximum II bei 279 mμ). Eine charakteristische Chelatverschiebung trat nicht auf, was bereits aus dem Unterbleiben einer Gelbfärbung der Lösung nach Zugabe von $AlCl_3$ ersichtlich war. Vermutlich haben wir es hier mit einem Flavanon oder Isoflavon zu tun.

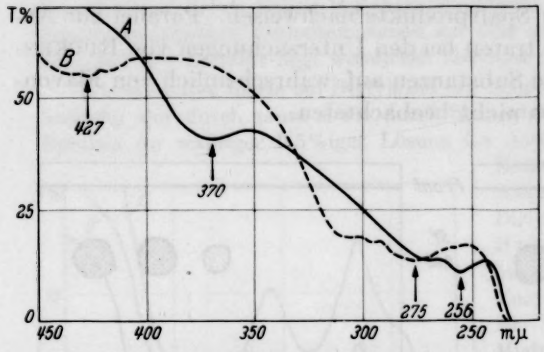


Abb. 4. Spektrale Transmissionskurve des Quercetin-7-Glykosides aus den Blütenblättern von *Helianthus annuus*. *A* = methanolisch unbehandelt, *B* = Aluminiumchelat

Neben-Flavonoide in sehr geringen Mengen mit den *Rf*-Werten 0,45 bis 0,50 und 0,25 blieben unberücksichtigt.

Eine Zusammenstellung der Charakteristika der bei *Helianthus annuus* weiter zu verfolgenden Komponenten: Kaffeesäure, Chlorogensäure und Scopolin erübrigt sich unter Hinweis auf Tabelle 1. Aufgeführt seien nur die wesentlichen Daten des Hauptflavonoides (s. Tabelle 2).

Zea mays: Zea mays war für uns zunächst insofern ein interessantes Versuchsobjekt, als sich bei den Keimlingen das Hypocotyl und die Wurzeln intensiv rot färbten. Die Keimlinge wurden in Petrischalen auf feuchten Filtrierpapieren 5 Tage in einem Thermostaten bei 25° C unter künstlicher Beleuchtung herangezogen und dann an einem Südfenster dem vollen Tageslicht ausgesetzt. Es lag nahe, an Anthocyanfärbung zu denken; die nähere Untersuchung ergab jedoch, daß dies nicht zutrifft.

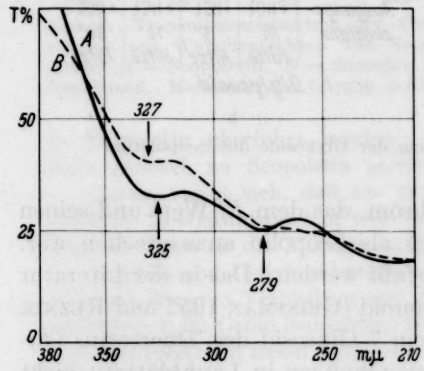


Abb. 5. Transmissionsspektrum des Hauptflavonoides H_1 aus den Laubblättern von *Helianthus annuus*. *A* = methanolisch unbehandelt, *B* = Aluminiumchelat

Im Chromatogramm des methanolischen Kalt-Extraktes aus Wurzeln und Hypocotyl dieser rotgefärbten Pflanzen lief die orange bis rotbraun gefärbte Substanz in BEW mit einem *Rf*-Wert von 0,80—0,86, was für ein Anthocyan sehr ungewöhnlich ist. Außerdem war die methanolische Lösung keineswegs farblos, wie das häufig bei methanolischen Anthocyan-Extrakten beobachtet wird, bei denen das Pigment in seiner farblosen ψ-Base vorliegt und erst beim Aufbringen auf das Chromatogramm und anschließendem Wegtrocknen des Methanols wieder mit

Tabelle 2. *Hauptflavonoid aus Helianthus annuus-Blättern*

Substanz	R_f-Wert in BEW	Unbehandelt		$AlCl_3$ (methan.)		NH_3		Benedicts Reagenz		R_f-Werte nach Hydrolyse in Forestal	Unbehandelt	
		TG	UV	TG	UV	TG	UV	TG	UV		TG	UV
Hauptfl. H_1 .	0,55—0,60	—	Br	—	G	—	Br	—	—	0,93	—	tG

seinem nun noch intensiveren Farbton erscheint. Die Tüpfelprobe mit $FeCl_3$ fiel zwar positiv aus, reagierte aber auch oberhalb und unterhalb des Spots mit intensiven Blautönen. Beim Eluieren der Substanz aus dem Papier mit 2 n HCl + Methanol (v/v 1:1) ergab sich ein gelblicher Farbton. Auch die Absorptionskurve deutete nicht auf ein typisches Anthocyan hin (Abb. 6).

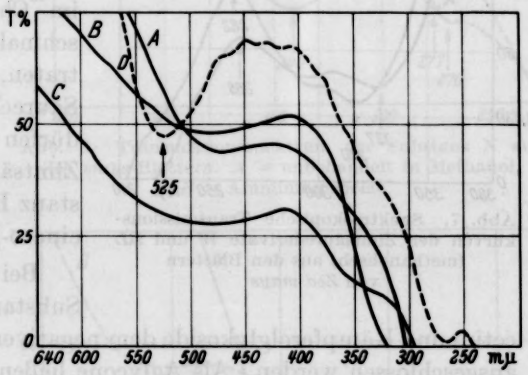


Abb. 6. Transmissionsspektrum des „Pseudoanthocyans" aus den Wurzeln und dem Hypocotyl von *Zea mays*. *A* = in Methanol, *B* = in Meth.-HCl (1:1), *C* = auf dem Papier gemessen, *D* = nach der Hydrolyse in Methanol

Das Spektrum in Methanol p. a., in 1 n methanolischer Salzsäure und auf dem Papier gemessen, zeigte sich wenig aufschlußreich mit nur einem Hauptmaximum zwischen 450 und 457 mμ (stark schwankend bei den mehrmaligen Prüfungen). Nach der Hydrolyse trat bemerkenswerterweise neben der unveränderten Substanz mit dem hohen *Rf*-Wert von 0,82 ein Anthocyanspot mit typischem *Rf*-Wert (0,30—0,32) auf. Dieser Stoff wurde eindeutig als Cyanidin-3-monosid erkannt (Abb. 6D). Vielleicht ist die hier aufgefundene rotbraune Substanz als Anthocyan-Vorstufe anzusehen. Eine Parallele mit dem von PAECH (1953) erwähnten, „noch nicht genau identifizierten Farbstoff" zu ziehen, den PAECH aus wäßrigen Extrakten von Blättern verschiedener Pflanzenarten durch Zufügen von geringen Phloroglucinkonzentrationen und durch anschließendes schwaches Ansäuern mit Mineralsäure erhält, ist nach den vorliegenden Untersuchungen noch verfrüht. Eingehendere Experimente sind von uns vorgesehen. Übereinstimmend ist zwar der hohe *Rf*-Wert (nach Angabe von PAECH 0,78—0,82) und die rotbraune Fluorescenz im UV, die nach Behandeln mit NH_3 einem intensiveren Rot weicht; abweichend hingegen verhält sich das Absorptionsspektrum, das nach PAECH ein Maximum bei 530 mμ besitzt, allerdings nach Bestimmung mit dem Pulfrich-Photometer.

Die bei unseren Untersuchern in späteren Entwicklungsstadien der Maispflanzen entstehende Rotfärbung der Blattrippen oder des Hypocotyls (etwa bei Mangelernährung oder bei den Stoffwechsel

beeinträchtigendem Umpflanzen sowie Welken) beruht auf der Bildung des Anthocyans Cyanidin-3-monosid.

Bei jüngerem Blattmaterial von *Zea mays* trat in starkem Maße eine Störung der chromatographischen Trennung der erwünschten Komponenten durch Chlorophyll auf, so daß eine vorherige Abtrennung der plasmochromen Pigmente für eine Auswertung der Chromatogramme unerläßlich war. Quantitative Untersuchungen waren aus diesem Grunde erst von einer bestimmten Altersgrenze der Pflanzen ab möglich.

Als Flavonoidkomponenten im engeren Sinne konnten für *Zea mays* die in Tabelle 3 aufgeführten erfaßt und mit den aufgezeigten Daten charakterisiert werden. Den Substanzen W und BL (Abb. 7), die im Chromatogramm in länglich-schmalen, intensiven Spots auftraten, war nach allen Kennzeichen Säurecharakter zuzusprechen. Wir dürfen sie in die Reihe der Zimtsäurederivate einordnen. Substanz Bl wurde bereits genauer als eine o-Dioxyzimtsäure erkannt.

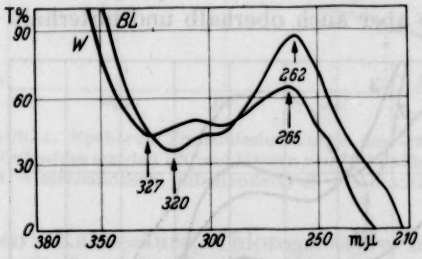


Abb. 7. Spektroskopische Transmissionskurven der Zimtsäurederivate *W* und *BL* (methanolisch) aus den Blättern von *Zea mays*

Bei Substanz N (Abb. 8) und Substanz H (Abb. 9) konnten Quercetin- und Kämpferolglykoside dem negativen Hydrolysenbefund zufolge ausgeschlossen werden. Als Aglycone ließen sich Tricin — nach BATE-SMITH (1956) in allen Gramineen enthalten — und Apigenin nachweisen.

Tabelle 3. *Flavonoide und Zimtsäurederivate aus Zea mays-Blättern*

Substanz	R_f-Werte in BEW	Unbehandelt		$AlCl_3$ (methan.)		NH_3		Benedicts Reagenz		R_f-Werte nach Hydrolyse in Forestal	Unbehandelt	
		TG	UV	TG	UV	TG	UV	TG	UV		TG	UV
W	0,20	—	W	—	G	—	—	—	Br	—	—	—
BL	0,22	—	f.Bl	—	Bl	—	Gr	—	Gr	0,89	—	Bl
N	0,40	G[1]	dBr	tG	G	G	Br	G	Br	0,70	—	tG
H	0,60	G[1]	dBr	tG	G	G	Br	G	Br	0,72	—	tG

Auch spektroskopische Daten sprechen für Glykoside des Tricins und Apigenins, also für Flavone. Die Substanz H überwog quantitativ bei weitem und wurde somit von uns als Hauptflavonoid angesprochen.

Es gelang bei unseren Untersuchungen nicht, das nach mehreren Literaturangaben für *Zea mays* typische Flavonol Isoquercitrin, das 3-Glykosid des Quer-

cetins zu erfassen. Doch mag der Mais als eine stark durchgezüchtete Pflanze mit heute sehr verschiedenen Rassenmerkmalen wohl auch Linien aufweisen, deren Genbestand die Ausbildung des einen oder anderen Flavonoids begünstigt oder gänzlich unterdrückt, so daß Isoquercitrin vielleicht nicht mehr für alle Rassen des Maises charakteristisch ist. Diese Annahme stützt sich auf die Angaben von Paech (1950) über ein dominantes Gen in gewissen Maisrassen, das die Anthocyanstruktur hervorbringt, während dessen recessives Allel homocygot das Flavonolhomologe erzeugt.

Triticum vulgare: Wir verwendeten hier die Sorten Heine VII und Hanter II als Saatgut mit zufriedenstellend hohen Keimprozenten [bezogen von der Firma Winter, Heidelberg, die uns auch die Samen für Sonnenblumen und Mais (Österr. Pettender) lieferten]. Da es sich um typische Winterweizensorten handelt, kamen die Pflanzen bei der von uns erst Mitte März vorgenommenen Aussaat nicht zum Schossen und zu einem Fruchtansatz, was aber unsere Untersuchungen nicht beeinträchtigte. Es konnten im übrigen Vergleichspflanzen derselben Sorten, die überwintert hatten und völlig ausreiften, vom Max-Planck-Institut für Züchtungs-Forschung (Erwin-Baur-Institut), Zweigstelle Rosenhof bei Ladenburg, zum Vergleich untersucht werden.

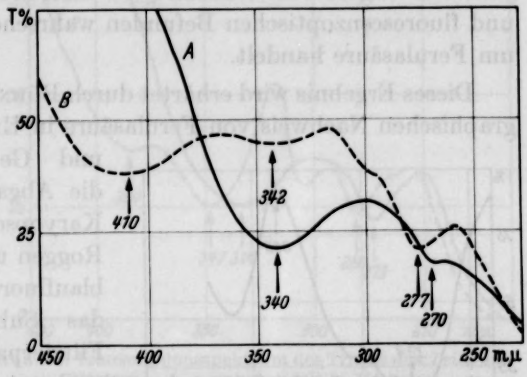


Abb. 8. Transmissionsspektrum der Substanz N aus *Zea mays*-Blättern. *A* = unbehandelt in Methanol, *B* = Aluminiumchelat

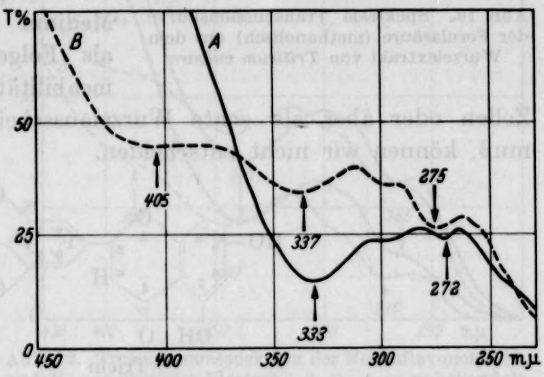


Abb. 9. Transmissionsspektrum der Substanz H aus *Zea mays*-Blättern. *A* = unbehandelt in Methanol, *B* = Aluminiumchelat

Konnte Geissman (1956) bei virus-infizierten Kirschen- und Pfirsichblättern nachweisen, daß die Quercitrin- und Kämpferolmenge auf das rund 3fache gegenüber der nichtbefallener Blätter anstieg, so zeigte sich bei den von uns untersuchten *Triticum*-Blättern ein Befall mit Mehltau, Gelb- und Braunrost nicht mit einem zunehmenden Flavonoidgehalt korreliert.

In methanolischen Extrakten aus Keimlingen und noch relativ jungen Weizenpflanzen, die Flavonoide erst in Spuren zeigten, war bereits das charakteristisch blau-fluorescierende Polyphenol Scopolin in beachtlicher Menge nachzuweisen. Neben ihm trat in Wurzel-Extrakten eine fahlblaufluorescierende Substanz (*Rf*-Wert = 0,86—0,90) auf, die nach

unseren Untersuchungen sich weder mit dem Scopoletin (*Rf*-Wert = 0,82) noch mit dem von EBERHARDT (1955) sowie GOODWIN und POLLOCK (1954) in Haferwurzeln durch Säurehydrolyse in Freiheit gesetzten Aglykon des sogenannten Wurzelspitzenglykosides (*Rf*-Wert = 0,93) identisch zeigte. Wir konnten nach unseren spektroskopischen (Abb. 10) und fluorescenzoptischen Befunden wahrscheinlich machen, daß es sich um Ferulasäure handelt.

Dieses Ergebnis wird erhärtet durch BÖRNERS (1956) papierchromatographischen Nachweis von Ferulasäure in Extrakten von Getreidestroh und Getreide-Rückständen sowie die Abgabe dieser Verbindung aus Karyopsen und Wurzeln von Weizen, Roggen und Gerste. Daß zum Teil blaufluorescierende Substanzen in das Substrat (in unserem Falle Filtrierpapier) übertreten, konnten auch wir in Übereinstimmung mit EBERHARDT (1954) beobachten. Ob diese Abgabe an das umgebende Medium als passiv, also lediglich als Folge irreversiblen Semipermeabilitätsverlustes abgestorbener Zellen oder aber als echte Wurzelausscheidung angesehen werden muß, können wir nicht entscheiden.

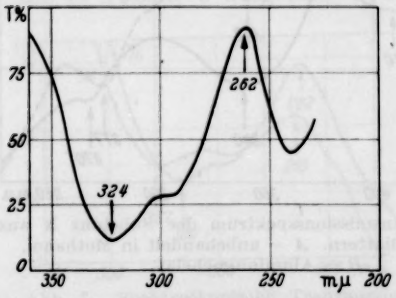
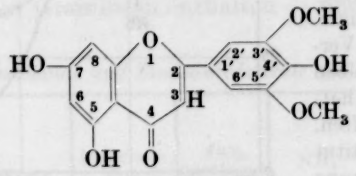


Abb. 10. Spektrale Transmissionskurve der Ferulasäure (methanolisch) aus dem Wurzelextrakt von *Triticum vulgare*



Tricin

Das für *Triticum* in der Literatur angegebene Hauptflavonoid Tricin, ein 4′,5,7-trihydroxy-3′,5′-dimethoxyflavon (Abb. 11), trat im Chromatogramm mengenmäßig vorherrschend in glykosidierter Form auf (*Rf*-Wert = 0,30—0,32). Nach der Hydrolyse war das Aglykon in Forestal mit einem *Rf*-Wert von 0,69 mit unverändert brauner Fluorescenz im UV-Licht auffindbar.

Ein weiterer im methanolischen Extrakt der Weizenblätter anzutreffender Stoff, bezeichnet im Folgenden als Nebenflavonoid N_1 (Abb. 12), sprachen wir als Apigeninglykosid an. Ein weiteres Nebenflavonoid N_2, vermutlich ebenfalls ein Apigeninglykosid, wurde in unseren Versuchen nicht berücksichtigt (Abb. 12).

Die von BATE-SMITH und WESTALL (1950) und REZNIK (1956) aufgezeigten Beziehungen zwischen *Rf*-Wert und Struktur des Seitenphenyls bei Flavonoiden konnten wir mit unseren Ergebnissen an den Flavonen Tricin, Apigenin und Luteolin sowie den Flavonolen Kämpferol, Quercetin und Myricetin bestätigen:

a) Der *Rf*-Wert war der Zahl der Hydroxylgruppen im B-Ring des Genins umgekehrt proportional.

b) Bei dem Ersetzen von B-Ring-Hydroxylen durch Methoxyl-Gruppen wurde der *Rf*-Wert erhöht, d. h. die Wasserlöslichkeit einer Substanz verringert.

In Tabelle 4 sind die wichtigsten, das Tricin und das Nebenflavonoid N_1 betreffenden Daten wiedergegeben (s. Tabelle 4; bezügl. Scopolin s. Tabelle 1).

Aus den dargelegten qualitativen Untersuchungen ergab es sich, daß für eine quantitative Erfassung die Beschränkung auf folgende Komponenten sinnvoll war:

Hedera helix: Rutin, Scopolin, Chlorogensäure, Kaffeesäure.

Helianthus annuus: Hauptflavonoid H_1, Scopolin, Chlorogensäure, Kaffeesäure.

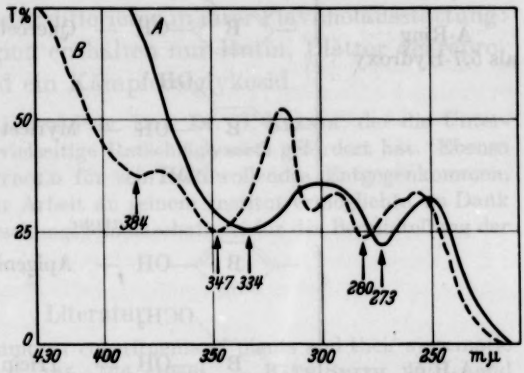


Abb. 11. Transmissionsspektrum des Tricins aus *Triticum*-Blättern. *A* = unbehandelt in Methanol, *B* = Aluminiumchelat

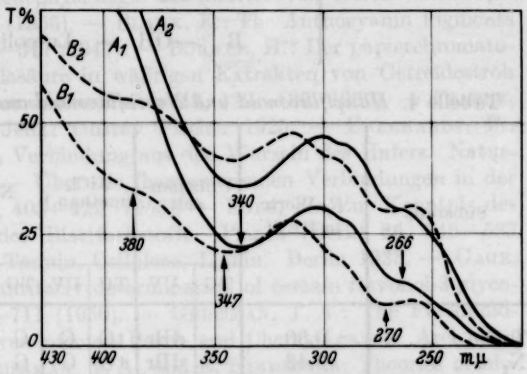


Abb. 12. Transmissionsspektren der Nebenflavonoide N_1 und N_2 aus *Triticum*-Blättern. A_1 u. A_2 = unbehandelt in Methanol, B_1 u. B_2 = Aluminiumchelate

Zea mays: Substanz W, Substanz BL, Hauptflavonoid H_1, Nebenflavonoid N_1.

Triticum vulgare: Tricin, Nebenflavonoid N_1, Scopolin.

Der Teil I dieser Arbeit stellt somit ausschließlich die Vorarbeit für die in Kürze folgenden Teile II und III dar. Teil II wird von Untersuchungen über den jahreszeitlichen und tagesperiodischen Verlauf der Sekundärstoffbildung berichten. In Teil III werden wir von der Beeinflussung des Stoffwechsels durch Variieren äußerer Einwirkungen sowie über die Zufuhr biogenetischer Vorstufen und der Erfassung der resultierenden Stoffproduktion hören.

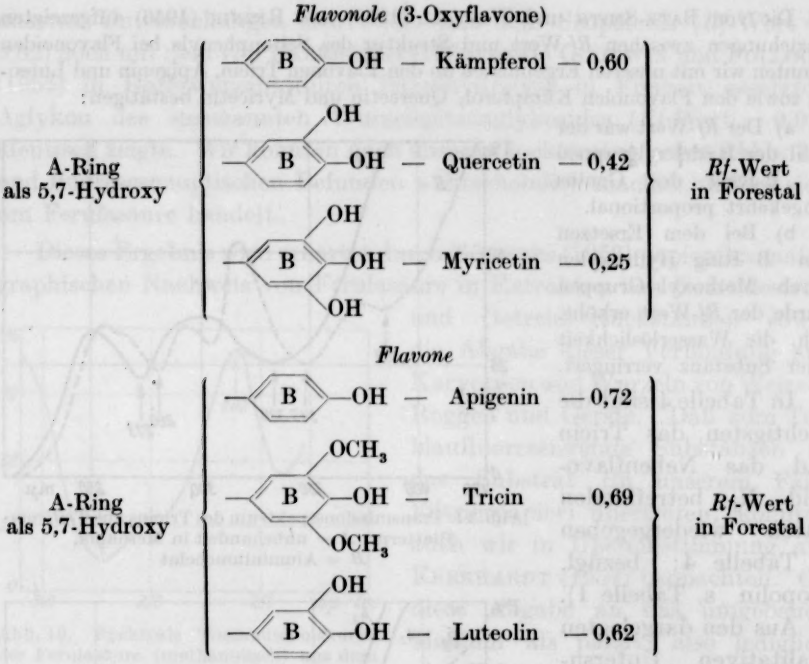


Tabelle 4. *Hauptflavonoid und Nebenflavonoid aus Triticum-vulgare-Blättern*

Substanz	R_f-Werte in BEW	Unbehandelt		$AlCl_3$ (methan.)		NH_3		Benedicts Reagenz		R_f-Werte nach Hydrolyse in Forestal	Unbehandelt	
		TG	UV	TG	UV	TG	UV	TG	UV		TG	UV
Tricin	0,30	—	dBr	tG	G	G	Br	G	Br	0,69	—	—
N_1	0,42	—	dBr	tG	G	G	Br	G	Br	0,71	—	—

Zusammenfassung der Ergebnisse

Die Arbeit berichtet über das Auftreten bestimmter Flavonoide und Oxyzimtsäuren in den Laubblättern von *Hedera helix, Zea mays, Triticum vulgare* und *Helianthus annuus*.

Im Efeublatt findet sich in größeren Mengen Rutin, Chlorogensäure, Kaffeesäure und Scopolin.

Das Hauptflavonoid in Sonnenblumenblättern ist nicht Quercimeritrin, sondern ein Flavanon oder Isoflavon. Chlorogensäure, Kaffeesäure und Scopolin treten in *Helianthus*-Blättern ebenfalls auf.

Blätter von *Zea mays* sind durch zwei stark wasserlösliche Zimtsäurederivate charakterisiert. Hauptflavonoid ist bei unserer Maisrasse (Österr. Pettender) nicht Isoquercitrin, sondern ein Flavon.

Weizen-Blätter enthalten Tricin, noch zwei Nebenflavone und Scopolin.

Bei *Helianthus*, *Zea* und *Triticum* beeinflußt das Licht nur quantitativ die Bildung von Flavonoiden und Oxyzimtsäuren. Die heterophyllen Blätter von *Hedera helix* differieren in ihrer Flavonolausstattung: Blätter der vegetativen Region enthalten nur Rutin, Blätter der reproduktiven Region vorwiegend ein Kämpferolglykosid.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Priv.-Doz. Dr. H. Reznik, der die Untersuchungen angeregt und durch vielseitige Ratschläge stets gefördert hat. Ebenso bin ich Herrn Prof. Dr. A. Seybold für sein wohlwollendes Entgegenkommen, das mir die Durchführung dieser Arbeit an seinem Institut ermöglichte, zu Dank verpflichtet. Der Deutschen Forschungsgemeinschaft sei für die Bereitstellung der Geräte und Materialien gedankt.

Literatur

Bate-Smith, E. C.: The commoner constituents of plants and their systematic distribution. Sci. Proc. **27**, No 6, 165—176 (1956). — Bate-Smith, E. C., and R. C. Westall: Chromatographic behaviour and chemical structure I. Some naturally occurring phenolic substances. Biochem. Biophys. Acta **4**, 427—440 (1950). — Bauer, A.: Beiträge zur Pigmentphysiologie der Blätter von Aurea-Varietäten. Beitr. Biol. Planz. **32**, 403—426 (1956). — Blank, F.: The Anthocyanin Pigments of Plants. Bot. Review **13**, 241—317 (1947). — Börner, H.: Der papierchromatographische Nachweis von Ferulasäure in wäßrigen Extrakten von Getreidestroh und Getreiderückständen. Naturwissenschaften **43**, 129—130 (1956). — Czapek, F.: Biochemie der Pflanzen. Jena: Gustav Fischer 1925. — Eberhardt, F.: Ausscheidung einer organischen Verbindung aus den Wurzeln des Hafers. Naturwissenschaften **41**, 259 (1954). — Über die fluoreszierenden Verbindungen in der Wurzel des Hafers. Z. Bot. **43**, 405—422 (1955). — Egle, K.: Zur Kenntnis des Lichtfeldes der Pflanze und der Blattfarbstoffe. Planta (Berl.) **26**, 546—583 (1937). — Freudenberg, K.: Tannin, Cellulose, Lignin. Berlin 1933. — Gage, T. B., and S. H. Wender: Quantitativ determination of certain flavonol-3-glycosides. Analyt. Chem. **22**, 708—711 (1950). — Geissman, T. A.: The Flavonoid-Constituents of normal and virus-infected Peach and Cherry-Leaves. Arch. Biochem. **60**, 21—26 (1956). — Geissman, T. A., and E. Hinreiner: Theories of biogenesis of flavonoid compounds. Bot. Review **18**, 77—244 (1952). — Goodwin, B. M., and B. M. Pollock: Studies on roots I. Properties and distribution of fluorescent constituents in Avena roots. Amer. J. Bot. **41**, 516—520 (1954). — Hänsel, R., u. L. Hörhammer: Vergleichende Untersuchungen über die Flavonglycoside der Betulaceen. Arch. Pharmac. **287**, 117—126 (1954). — Phytochem.-syst. Untersuchungen über die Flavonglycoside einiger Polygonaceae. Arch. Pharmaz. **287**, 189—198 (1954). — Harborne, J. B.: Use of Alkali and Aluminium-Chloride in the Spektral Study of Phenolic Plant Pigments, Chem. and Ind. **1954**, 1142. — Herrmann, K.: Über Kaffeesäure und Chlorogensäure. Pharmazie **11**, 433—449 (1956). — Hörhammer, L., u. R. Hänsel: Zur Analytik der Flavone VIII. Weitere Eigenschaften halochromer Borkomplexe. Arch. Pharmaz. **288**, 315—321 (1954). — Kostytschew, S.: Chemische Physiologie. Berlin 1926. — Paech, K.: Biochemie und Physiologie der sekundären Pflanzenstoffe. Berlin 1950. — Über gewisse noch nicht identifizierte Inhaltsstoffe höherer Pflanzen. Planta (Berl.) **42**, 56—63 (1953). — Paech, K., u. H. Ruckenbrod: Die Bestimmung der Chlorogensäure in Pflanzenmaterial. Ber. dtsch. bot. Ges. **66**, 76—79

(1953). — Paech, K., and M. V. Tracey: Moderne Methoden der Pflanzenanalyse I—IV. Berlin 1955. — Politis, J.: Sur la distribution de l'acide chlorogénique dans la famille des Solanacées et dans les organes de ces plantes. Chim. végét. **226**, 692 bis 693 (1948). — Reznik, H.: Untersuchungen über die physiologische Bedeutung der chymochromen Farbstoffe. S.-B. Heidelberg. Akad. Wiss., math.-nat. Kl. II **1956**, 125—217. — Roller, K. A.: Über Flavonoide in weißen Blumenblättern. Z. Bot. **44**, 477—500 (1956). — Ruckenbrod, H.: Untersuchungen über den Umsatz der Chlorogensäure in höheren Pflanzen. Planta (Berl.) **46**, 19—45 (1955). — Seybold, A.: Über den Lichtgenuß der Sonnen- und Schattenpflanzen. Ber. dtsch. bot. Ges. **52**, 493—505 (1934). — Über den Lichtfaktor photophysiologischer Prozesse. Jb. wiss. Bot. **82**, 741—795 (1936). — Seybold, A., u. K. Egle: Lichtfeld und Blattfarbstoffe. I. Planta (Berl.) **26**, 491—505 (1937).

Dr. Rosmarie Urban, Heidelberg, Botanisches Institut der Universität, z. Z. Zweigstelle Rosenhof des Max-Planck-Institutes für Züchtungsforschung (Erwin-Baur-Institut), Ladenburg bei Heidelberg

Planta, Bd. 52, S. 65—76 (1958)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Freiburg i. Br.

ÜBER DIE PAPIERCHROMATOGRAPHIE VON FLECHTENSTOFFEN*

Von

DIETER HESS

Mit 2 Textabbildungen

(Eingegangen am 31. März 1958)

Einleitung

In neuerer Zeit finden die Flechtenstoffe auf Grund ihrer antibiotischen Eigenschaften gesteigerte Beachtung (Zusammenfassungen: ASAHINA 1951, ASAHINA und SHIBATA 1954, SCHINDLER 1956/57; ferner KORTEKANGAS und VIRTANEN 1956, PAATSAMO und TALANTI 1956, VIRTANEN, VÄHÄTALO und KORTEKANGAS 1956, VIRTANEN und KÄRKI 1956, VIRTANEN 1956). Es ließ sich nachweisen, daß nicht nur die Usninsäure, sondern eine große Zahl von Flechtensäuren antibiotische Wirkungen aufweist (STOLL, RENZ und BRACK 1947, KLOSA 1951, LAAKSO, GUSTAFSSON und VIRTANEN 1952). Auf einfache Weise lassen sich die in einem Extrakt vorliegenden Flechtenantibiotica mit Hilfe papierchromatographischer Methoden trennen und identifizieren, wie WACHTMEISTER (1952) und MITSUNO (1953) zeigen konnten. In der vorliegenden Arbeit werden weitere Flechtenstoffe auf ihre papierchromatographischen Eigenschaften untersucht, Lösungsmittel und Reagentien erprobt, sowie Extrakte aus Flechten mit ermittelter chemischer Zusammensetzung zu Vergleichszwecken verwandt.

A. Papierchromatographie von Flechtenstoffpräparaten

Material. Mit wenigen Ausnahmen wurden die untersuchten Flechten im Hochschwarzwald oberhalb von 1000 m oder in Tirol zwischen 1400 und 3000 m Meereshöhe gesammelt und bei Zimmertemperatur getrocknet.

Darstellung der Flechtenstoffe. Usninsäure stand in einem Präparat der Firma Fluka (Schweiz) zur Verfügung. Die Präparation aller anderen Flechtenstoffe erfolgte nach den Methoden von ZOPF (1907), HESSE (1910) und ASAHINA (Literatur ASAHINA und SHIBATA 1954). Die gewonnenen Substanzen wurden zur Papierchromatographie meist in Aceton gelöst (Ausnahmen in Tabelle 3 unter Extraktionsmittel).

* Herrn Prof. Dr. F. OEHLKERS danke ich für sein Interesse während der Arbeit, der Deutschen Forschungsgemeinschaft für Unterstützung mit Chemikalien.

Das Barbatolsäurepräparat wurde nach den Angaben von ZOPF (1907) aus *Alectoria implexa* (Hoffm.) Nyl. hergestellt. Es enthielt zwei Säuren, von denen eine mit Gibbs' Reagens wie Barbatolsäure eine Graufärbung ergab. Die zweite Substanz färbte sich dagegen blau und kann demnach nur mit Bryopogonsäure (Hesse) identisch sein, die sich nach ZOPF nur schwer von der sog. Alectorsäure (Hesse) trennen läßt. In der Tat ist ja nach ASAHINA (1951) Hesses Alectorsäure unreine Barbatolsäure. Orsellinsäure wurde durch Alkoholyse von Gyrophorsäure, Cetrarsäure durch Alkoholyse von Fumarprotocetrarsäure gewonnen.

In Tabelle 3 sind diejenigen Flechten, die zur Darstellung von Flechtenstoffen dienten, durch Fettdruck hervorgehoben. Die Benennung der Flechtenstoffe erfolgte nach ASAHINA und SHIBATA (1954).

Lösungsmittelsysteme. In den meisten polaren Lösungsmitteln ergeben die Flechtenstoffe zu hohe R_f-Werte. Eine Herabsetzung kann durch Ammoniakzusatz (MITSUNO 1953, HALE 1956) oder durch Verwendung gepufferten Papiers erfolgen (WACHTMEISTER 1952, 1956). Vor allem durch Ammoniak werden aber empfindlichere Komponenten hydrolysiert. Die Deutung von Flechtenchromatogrammen kann dadurch erschwert werden, so vorteilhaft eine kontrollierte Hydrolyse für die Identifizierung von Depsidonen und Depsiden auch ist. Darum wurde eine Anzahl von Lösungsmitteln ohne Ammoniakzusatz auf ungepuffertem Papier untersucht (n-Butanol-Eisessig-Wasser, Eisessig-Wasser, Isopropanol-Wasser, n-Amylalkohol-Wasser, n-Amylalkohol-Aceton-Wasser in verschiedenen Mischungsverhältnissen). Am geeignetsten erwiesen sich n-Butanol-Äthanol-Wasser (4:1:5) (WACHTMEISTER 1956) und n-Butanol-Aceton-Wasser (5:1:2). Mit n-Butanol-Aceton-Wasser hatte MITSUNO (1953) auf Tokyo Nr. 50 bei aufsteigender Technik vielfach zu hohe R_f-Werte erhalten, was sich durch Abwandlung der Methodik jedoch vermeiden ließ.

Chromatographie. Die Papierchromatographie erfolgte absteigend auf Schl. & Sch. 2043b Mgl in einem Holz-Glas-Chromatographiekasten der Firma W. Vetter (Heidelberg). Auf das Papier wurden in Abständen von 3 cm jeweils 5 γ Substanz auf Startflecken von 0,5 cm Durchmesser aufgetragen. Nach 25—30 cm Laufstrecke wurde die Chromatographie abgebrochen. Da die unter diesen Bedingungen erhaltenen R_f-Werte Unterschiede auch zu den von WACHTMEISTER (1956) auf Whatmann Nr. 1 aufgefundenen Werten aufweisen, sind in Tabelle 1 die R_f-Werte aller hier untersuchten Flechtenstoffe in den angegebenen Lösungsmittelkombinationen aufgeführt.

Lokalisierung der Flechtenstoffe. *a) UV-Licht.* Als wichtigstes Hilfsmittel bei der Lokalisierung und Identifizierung von Flechtenstoffen erwies sich kurzwelliges UV-Licht (254 mμ, Quecksilber-Niederdruckbrenner NN 15/44, Hanau). Im Gegensatz zu langwelligem UV (360 mμ, Hanau) lassen sich noch Spuren von Flechtenstoffen in charakteristischen Fluorescenzfarben erkennen. Besonders deutlich heben sich die Kerne der Flecken ab.

b) Diazoniumsalze. WACHTMEISTER (1952, 1956) verwendet diazotiertes Benzidin zum Nachweis von Depsiden und Depsidonen. NEU und NEUHOFF (1957a, b) benutzten stabile Diazoniumsalze zum Nachweis von Flavonen und deren Spaltprodukte. Es zeigte sich, daß sich diese Substanzen auch zum Nachweis von Flechtenstoffen verwenden lassen. Untersucht wurden Echtschwarzsalz K, Echtblausalz B und Echtblausalz BB (Bayer-Leverkusen). Echtschwarzsalz K ist in seiner

Reaktion so empfindlich wie diazotiertes Benzidin, aber im UV (360 mμ) heben sich die Farbflecken zu wenig von dem ebenfalls stark fluorescierenden Untergrund ab. Echtblausalz BB reagiert erst mit etwas größeren Mengen Substanz. Mit Vorteil läßt sich dagegen Echtblausalz B verwenden, das in seiner Empfindlichkeit diazotiertem Benzidin kaum nachsteht und deutliche Fluorescenzfarben ergibt. Alle drei stabilen Diazoniumsalze ergeben auch bereits mit etwa 10 γ Usninsäure eine deutliche Reaktion, während das von Mitsuno (1953) zum spezifischen Nachweis von Usninsäure verwandte Chloramin T (5%ige Lösung in Aceton) erst mit etwa 20 γ Usninsäure reagiert.

Tabelle 1. *R_f-Werte von Flechtenstoffen*
Lösungsmittel: a) n-Butanol-Äthanol-Wasser (4:1:5), organ. Phase; b) n-Butanol-Aceton-Wasser (5:1:2); absteigend auf Schl. & Sch. 2043 b Mgl.

Flechtenstoffklasse	Flechtenstoff	Lösungsmittel a	Lösungsmittel b
Pulvinsäure-Derivate	Vulpinsäure	0,68	0,76
	Pinastrinsäure	0,57	0,65
Depside vom a) Orcintyp	Evernsäure	0,63	0,67
	Divaricatsäure	0,73	0,78
	Sphärophorin	0,79	0,85
	Imbricarsäure	0,14	0,09
	Gyrophorsäure	0,60	0,73
	Umbilicarsäure	0,33	0,34
	(Orsellinsäure	0,91	0,93)
b) β-Orcintyp	Barbatinsäure	0,71	0,75
	Diffractasäure	0,69	0,72
	(Chlor-)Atranorin	0,73	0,82
	Squamatsäure	0,13	0,10
	Thamnolsäure	0,09	0,08
	Barbatolsäure	0,42	0,57
Depsidone vom a) Orcintyp	Physodsäure	0,77	0,84
	α-Collatolsäure	0,82	0,88
	Lobarsäure	0,83	0,87
b) β-Orcintyp	Salazinsäure	0,27	0,28
	α-Methyläthersalazinsäure	0,41	0,42
	Stictinsäure	0,33	0,34
	Norstictinsäure	0,48	0,53
	Protocetrarsäure	0,29	0,32
	Fumarprotocetrarsäure	0,23	0,24
	(Cetrarsäure	0,43	0,50)
	Physodalsäure	0,42	0,48
	Pannarin	0,02	0,01
Anthrachinone	Parietin	0,80	0,84
	Rhodocladonsäure	0,00	0,00
Dibenzofuran-Derivat	Usninsäure	0,81	0,86
	Alectorialsäure Zopf	0,27	0,51
	Bryopogonsäure Hesse	0,20	0,19
	Usnarsäure Hesse	0,29	0,28

Diazotiertes Benzidin (Wachtmeister 1955, 1956):

I: 5 g Benzidin in 14 cm³ HCl konz. lösen und mit Aqua dest. auf 1000 cm³ auffüllen.

II: 100 g Natriumnitrit in 1000 cm³ Aqua dest.

Vor Gebrauch I und II im Verhältnis 1:1 mischen, nach dem Besprühen wässern. Da sich die Farben nicht grundlegend veränderten, wurden sie unmittelbar nach dem Trocknen bei Zimmertemperatur bei Tageslicht und im UV (360 mμ) begutachtet. *Stabile Diazoniumsalze* (Neu 1957): Mit 0,01%igen Lösungen der erwähnten Diazoniumsalze besprühen, bei 80° C trocknen und anschließend im UV (360 mμ) und bei Tageslicht betrachten.

c) p-Phenylendiamin (0,01%ige äthanolische Lösung). Eine Reihe von Flechtenstoffen, vor allem Depsidone vom β-Orcintyp, reagiert nicht mit Diazoniumsalzen, dagegen gut mit p-Phenylendiamin. Stictin- und Norstictinsäure ergeben auf Grund ihrer chemischen Konstitution nicht die übliche Gelb-, sondern eine Dunkelfärbung (über die Spezifität von p-Phenylendiamin vgl. WACHTMEISTER 1956). Zusätzlich wurde noch Gibbs' Reagens angewandt (WACHTMEISTER 1956), während $FeCl_3$ (MITSUNO 1953) zu wenig empfindlich ist.

Die Farben im UV-Licht und nach Besprühen sind in Tabelle 2 angeführt. Die Angaben beziehen sich, soweit nicht anders angegeben, auf 5 γ Substanz.

Dokumentation. Für die Dokumentation von Flechtenstoffen eignet sich die bei Purinen, Pyrimidinen und Nucleinsäuren eingeführte Photoprint-Technik (vgl. MARKHAM 1955).

Lichtquelle: Quecksilberniederdruckbrenner NN 15/44 (Hanau). Kontaktphotographien auf Agfa-Dokumentenpapier aus 120 cm Entfernung. Belichtungszeit je nach Art und Menge der Substanz eine bis mehrere Sekunden. Unter Umständen ist es vorteilhaft, erst nach Anfärben mit p-Phenylendiamin zu photographieren.

B. Papierchromatographie von Flechtenextrakten zu Vergleichszwecken

Die R_f-Werte schwanken stets innerhalb gewisser Grenzen. Die dadurch auftretenden Schwierigkeiten können durch Mitchromatographieren einer Bezugssubstanz verkleinert werden. Bei der großen Zahl der Flechtensäuren sind die Verwechselungsmöglichkeiten jedoch noch immer so groß, daß es sich empfiehlt, die im Extrakt vermuteten Stoffe vergleichsweise mitlaufen zu lassen. Da die Reindarstellung einer größeren Zahl von Flechtenstoffen zumindest äußerst zeitraubend ist, werden im folgenden Extrakte aus Flechten mit ermittelter Zusammensetzung zu Vergleichszwecken herangezogen.

Methodik. In einfach gelagerten Fällen kann bei höheren Pflanzen das Untersuchungsmaterial direkt auf dem Chromatographiepapier ausgedrückt werden (BOPP 1956). Auch bei manchen Flechten ist ein ähnliches Verfahren möglich (HALE 1956). Meist sind die Flechtenstoffe aber so schwer löslich, daß eine Extraktion im engeren Sinn nicht zu vermeiden ist.

50 mg Thallus wurden mit 1 cm^3 des angegebenen Lösungsmittels unter kurzem Aufkochen (Tabelle 3) extrahiert. 0,01—0,02 cm^3 des Extraktes wurden in Lösungsmittelsystem a und b chromatographiert. Eine Anreicherung kann durch Einengen des Extraktionsmittels oder durch Erhöhung der Thallusmenge erfolgen. Die Flechtenstoffe wurden auf Grund ihrer R_f-Werte, ihrer Fluorescenz im UV bei 254 mμ und ihrer Reaktionen mit p-Phenylendiamin und Echtblausalz B identifiziert. Zum Vergleich dienten Reinpräparate.

Tabelle 2. *Farbreaktionen und Fluorescenz im UV*

Abkürzungen: DB = Diazotiertes Benzidin; EK = Echtschwarzsalz K; EB = Echtblausalz B; EBB = Echtblausalz BB; p-P = p-Phenylendiamin; UV = UV 254 mμ; TL = Tageslicht; B = blau; Br = braun; Brl = bräunlich; D = dunkel; G = grau; Ge = gelb; Gel = gelblich; Gr = grün; H = hell; K = karmin; L = leicht; Or = orange; Oc = ocker; R = rot; Rs = rosa; T = tief; V = violett; W = weiß; Z = Ziegel.

Flechtenstoff	UV	DB		EK		EB		EBB		p-P
		TL	UV 360	TL	UV 360	TL	UV 360	TL	UV 360	UV 360
Vulpinsäure . .	Ge	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Pinastrinsäure .	Oc	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Evernsäure . .	DB	R	K	RV	V	Rs	R	LRs	LK	—
Divaricatsäure[1]	B	BrR	RV	V	V	Rs	K	Rs	Rs	—
Sphärophorin .	DB	BrR	K	RV	V	Rs	K	RV	R	—
Imbricarsäure[1]	B	HBr	DBR	RV	BV	Rs	V	Ge	WB	—
Gyrophorsäure	BV	R	BR	BG	BV	V	V	V	V	—
Umbilicarsäure[2]	BV	R	BR	BG	BV	V	V	V	V	—
Orsellinsäure[2] .	V	R	BR	BG	BV	V	V	V	V	—
Barbatinsäure[1].	DB	HBr	DBr	LRV	LV	LRs	LV	Gel	—	—
Diffractasäure .	HB	HBr	DG	LG	—	—	—	—	—	—
(Chlor-)Atranorin	HGr	HBr	Or	RV	V	Rs	ZR	R	K	+
Squamatsäure .	B	HBr	G	LV	V	Rs	G	—	—	—
Thamnolsäure .	Gel	Or	Or	RV	V	R	K	R	ZR	+
Barbatolsäure[2] .	Gel	HOr	RBr	RV	V	Rs	R	Rs	K	+
Physodsäure .	DB	Rs	GRs	BG	LV	LRs	LV	—	—	—
α-Collatolsäure	DV	HBr	DG	BG	D	LRs	LV	—	—	—
Lobarsäure[2] . .	D	Farbreaktionen durch Spuren Atranorin verdeckt								
Salazinsäure . .	HGr	—	—	—	—	—	—	—	—	+
α-Methyläthersalazinsäure[2]	HGr	—	—	—	—	—	—	—	—	+
Stictinsäure . .	Gel	—	—	—	—	—	—	—	—	+ D!
Norstictinsäure	Gel	—	—	—	—	—	—	—	—	+ D!
Protocetrarsäure	GeGr	—	—	—	—	—	—	—	—	+
Fumarprotocetrarsäure. .	GeGr	—	—	—	—	—	—	—	—	+
Cetrarsäure . .	Gel	LGe	G	—	—	Brl	Brl	—	—	+
Physodalsäure .	Gel	—	—	—	—	—	—	—	—	+
Pannarin . . .	HB	RBr	RV	BG	V	RV	RV	RV	BV	—
Parietin . . .	Oc	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Rhodocladonsäure[2] . . .	DR	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Usninsäure . .	DV	—	—	LRs	D	Brl	GBr	Gel	G	—
Alectorialsäure Zopf	GeGr	Or	Br	RV	V	R	K	Rs	K	+
Bryopogonsäure Hesse . . .	Gel	LOr	LOr	BV	V	Rs	Rs	Rs	K	+
Usnarsäure Hesse . . .	GeGr	—	—	—	—	—	—	—	—	+

[1] 10 γ; [2] nicht quantitativ. Alle anderen Angaben beziehen sich auf 5 γ Substanz.

Tabelle 3. *Vergleichssubstanzen aus Flechten*

Flechtenstoff	Flechte	Extraktionsmittel	Weitere Flechtenstoffe
Vulpinsäure	***Letharia vulpina*** (L.) Wain.	Chloroform	Atranorin
	Cetraria pinastri (Scop.) Ach.	„	Pinastrinsäure
	Cetraria nivalis (L.) Ach.	„	Pinastrinsäure, Usninsäure
Pinastrinsäure	***Cetraria pinastri*** (Scop.) Ach.	Chloroform	Vulpinsäure
	Cetraria nivalis (L.) Ach.	„	Vulpinsäure, Usninsäure
Evernsäure	***Evernia prunastri*** (L.) Ach.	Aceton	Atranorin
Divaricatsäure	***Haematomma ventosum*** (L.) Mass.	Aceton	Atranorin, Usninsäure
Sphärophorin	***Sphaerophorus melanocarpus*** (Sw.) DC.	Aceton	
Imbricarsäure	***Cladonia impexa*** Harm.	Aceton	Usninsäure
Gyrophorsäure	*Umbilicaria deusta* Baumg.	Aceton	Umbilicarsäure
	Umb. polyphylla Hoffm.	„	Umbilicarsäure
	Umb. pustulata Hoffm.	„	Umbilicarsäure
Umbilicarsäure	wie Gyrophorsäure		
Barbatinsäure	*Cladonia Floerkeana* (Fr.) Som.	Aceton	
	Clad. macilenta Hoffm.	„	
Diffractasäure	***Alectoria ochroleuca*** (Ehrh.) Nyl.	Aceton	Usninsäure
(Chlor-) Atranorin	*Parmelia acetabulum* (Neck.) Duby	Chloroform	
		„	
	Parm. furfuracea (L.) Ach.	„	Physodsäure
	Pharm. physodes (L.) Ach.	„	Physodsäure, Physodalsäure
	Parm. saxatilis (L.) Fr.	„	
	Parm. sinuosa Nyl.	„	
	Parm. tubulosa (Schaer.) Bitter	„	
	Letharia vulpina (L.) Wain.	„	Vulpinsäure
	Cetraria fallax (Web.) Ach.	„	
	Cetr. glauca (L.) Ach.	„	
	Cetr. islandia (L.) Ach.	„	
	Stereocaulon alpinum Laurer	„	Lobarsäure
	Ster. coralloides Fr.		
	Cladonia furcata (Hds.) Schrad.	„	
	Clad. gracilis (L.) Willd.	„	
	Clad. rangiferina (L.) Web.	„	
	Pannaria lanuginosa (Hoff.) Szat.	„	Pannarin
Squamatsäure	*Cladonia bellidiflora* (Ach.) Schaer.	Aceton	Usninsäure
	Clad. cenotea (Ach.) Schaer	„	Thamnolsäure
	Clad. crispata (Ach.) Fw.	„	Fumarprotocetrarsäure
	Clad. glauca Fkl.	„	Fumarprotocetrarsäure
	Clad. scabriuscula (Del.) Coem.	„	Atranorin
	Clad. squamosa (Scop.) Hffm.	„	

Tabelle 3 *(Fortsetzung)*

Flechtenstoff	Flechte	Extraktionsmittel	Weitere Flechtenstoffe
Thamnolsäure	***Thamnolia vermicularis*** (Sw.) Ach.	Aceton	
	Cladonia cenotea (Ach.) Schaer.	„	Squamatsäure
	Clad. digitata Schaer.	„	
	Icmadophila ericetorum L.	„	
Barbatolsäure	***Alectoria implexa*** (Hff.) Nyl.	Aceton 80%	Bryopogonsäure
Physodsäure	*Parmelia furfuracea* (L.) Ach.	Aceton	Atranorin
	Parm. physodes (L.) Ach.	„	Atranorin, Physodalsäure
	Parm. tubulosa (Schaer.) Bitt.	„	
α-Collatolsäure	***Lecanora atra*** (Huds.) Ach.	Aceton	
Lobarsäure	***Stereocaulon alpinum*** Laurer	Aceton	Atranorin
Salazinsäure	***Parmelia saxatilis***(L.) Fr.	Aceton 80%	Atranorin
	Parm. sinuosa Nyl.	„ „	Atranorin
α-Methyläthersalazinsäure	*Parmelia acetabulum* (Neck.) Duby	Aceton	Atranorin
	Parm. conspersa (Ehrh.) Ach.	„	Stictinsäure, Norstictinsäure
	Lobaria pulmonaria (L.) Hffm.	„	Stictinsäure, Norstictinsäure
Stictinsäure	s. α-Methyläthersalazinsäure, ferner		
	Sticta silvatica (Hds.) Ach.	Aceton	Norstictinsäure
Norstictinsäure	s. α-Methyläthersalazinsäure und Stictinsäure, ferner		
	Baeomyces rufus (Hds.) Rebent.	Aceton	Atranorin
	Stereocaulon coralloides Fr.	„	Atranorin
Protocetrarsäure	***Parmelia caperata*** (L.) Ach.	Aceton	Atranorin, Usninsäure
	Ramalia farinacea (L.) Fr.	„	Usninsäure
Fumarprotocetrarsäure	***Cetraria islandica*** (L.) Ach.		
	Cladonia chlorophaea (Flk.) Zopf	Aceton 80%	
		„ „	
	Clad. cornuto-radiata (Coem.) Zopf	„ „	
	Clad. furcata (Hds.) Schrad.	„ „	
	Clad. gracilis (L.) Willd.	„ „	
	Clad. maior (Hag.) Sandst.	„ „	Usninsäure
Fumarprotocetrarsäure	*Cladonia rangiferina* (L.) Web.	Aceton 80%	
	Clad. silvatica (L.) Hffm.	„ „	Usninsäure
	Clad. verticillata Hffm.	„ „	
Physodalsäure	***Parmelia physodes*** (L.) Ach.	Aceton 80%	Atranorin, Physodsäure
Pannarin	***Pannaria lanuginosa*** (Hffm.) Szat.	Aceton	Atranorin
Parietin	*Xanthoria parietina* (L.) Fr.	Benzol	
	Caloplaca elegans (Link) T. Fr.	„	

Tabelle 3 *(Fortsetzung)*

Flechtenstoff	Flechte	Extraktionsmittel	Weitere Flechtenstoffe
Rhodocladonsäure	Apothecien der ***Cocciferae***	Chloroform	(längeres Kochen)
Usninsäure	*Usnea ceratina* Ach.	Chloroform	
	Usn. dasypoga (Ach.) Nyl.	„	
	Usn. florida (L.) Hoffm.	„	
	Usn. plicata (L.) Fr.	„	
	Alectoria ochroleuca (Ehrh.) Nyl.	„	Diffractasäure
	Ramalina farinacea (L.) Fr.	„	Spur Protocetrarsäure
	Parmelia caperata (L.) Ach.	„	Protocetrarsre., Atranorin
	Parmelia conspersa (Ehrh.) Ach.	„	Stictinsäure, Norstictinsäure, Methyläthersalazinsäure, Spur Atranorin
	Cetraria cucullata (Bell.) Ach.	„	
	Cetr. nivalis (L.) Ach.	„	Vulpinsäure, Pinastrinsäure
	Cladonia bellidiflora (Ach.) Schaer.	„	
	Clad. coccifera (L.) Willd.	„	
	Clad. deformis Hffm.	„	
	Clad. impexa Harm.	„	
	Clad. maior (Hag.) Sandst.	„	
	Placodium rubinum Vill.	„	
	Plac. saxicolum (Poll.) Koerb.	„	
	Haematomma ventosum (L.) Mass.	„	Divaricatsäure
Alectorialsäure Zopf	***Alectoria nigricans*** Ach.	Aceton 80%	
Bryopogonsäure Hesse	***Alectoria implexa*** (Hffm.) Nyl.	Aceton 80%	Barbatolsäure
Usnarsäure Hesse	***Usnea dasypoga*** (Ach.) Nyl.	Aceton	Usninsäure

In Tabelle 3 sind die verwandten Flechten und Extraktionsmittel sowie die auf den Chromatogrammen neben der Hauptsubstanz noch zusätzlich vorhandenen Flechtenstoffe aufgeführt. In einigen Fällen sind noch unbekannte Komponenten vorhanden, die sich aber gut unterscheiden lassen.

Mehrere der erwähnten Flechten wurden erstmalig auf ihre Inhaltsstoffe untersucht. An Einzelheiten sei aber nur auf folgendes hingewiesen:

SCHINDLER (1955, 1956/57) nimmt an, daß in *Cetraria islandica* (L.) Ach. keine Usninsäure vorhanden sei. Die anscheinend gefundene Usninsäure solle von Verunreinigungen mit *Cetraria cucullata* (Bell.)

Ach. und *Cetraria nivalis* (L.) Ach. herrühren. Im *Cetrarieto-Loiseleurietum* der Alpen finden sich ja auch alle drei *Cetraria*-Arten vergesellschaftet. Die Papierchromatographie erlaubt es nun, kleine, genau bestimmte Thallusstücke zu untersuchen. Usninsäure konnte trotz Anreicherung und Überprüfung verschiedener Herkünfte in *Cetraria islandica* nicht aufgefunden werden (Abb. 1).

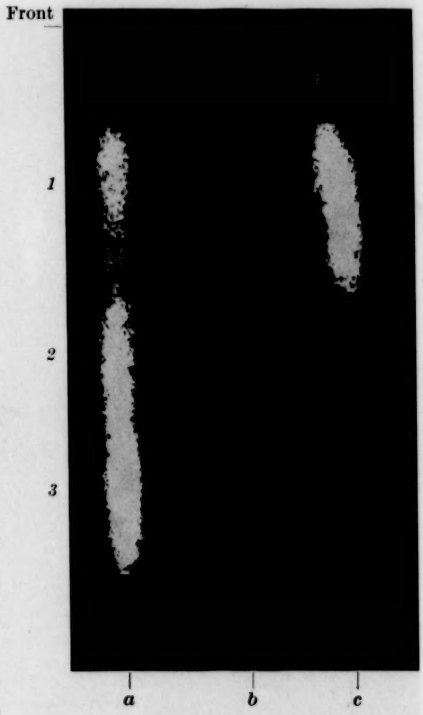


Abb. 1. Kontaktphotographie auf Agfa-Dokumentenpapier. Lösungsmittel *a* obere Chromatogrammhälfte. *1* = Usninsäure; *2* = Vulpinsäure; *3* = Pinastrinsäure. — *a* = *Cetraria nivalis* (L.) Ach.; *b* = *Cetr. islandica* (L.) Ach.; *c* = *Cetr. cucullata* (Bell.) Ach. Extrakte konzentriert

Besprechung

Flechten zu Vergleichszwecken heranzuziehen, ist nur dann sinnvoll, wenn diese Flechten unter verschiedenen Bedingungen qualitativ gleiche Säuren produzieren. Nach Zopf (1907) ist das auch der Fall, nur die *Quantität* an Säuren ist beträchtlichen, von Außenfaktoren abhängigen Schwankungen unterworfen. Doch mehren sich die Ausnahmen von dieser „Zopfschen Regel". Es sei nur auf die Variabilität der Lactonsäuren in *Cetraria islandica* (L.) Ach., das Vorkommen von Gyrophorsäure in japanischer *Lobaria pulmonaria* (L.) Ach., das Auftreten von Homosekikasäure in japanischer *Cladonia pityrea* Flk. f. *phyllophora* Mudd. und auf die verschiedenen chemischen Stämme von *Parmelia furfuracea* (L.) Ach. hingewiesen.

In der Gruppe der β-Depsidone sind Stictinsäure, Norstictinsäure, Salazinsäure und α-Methyläthersalazinsäure chemisch nahe verwandt. Ein und dieselbe Flechte kann nun unter Abwandlung des gegebenen chemischen Grundskelettes bald den einen, bald den anderen dieser Stoffe synthetisieren (vgl. auch Tabelle 3):

Parmelia acetabulum (Neck.) Duby enthält nach Asahina (vgl. Asahina und Shibata 1954) Norstictinsäure. Mikrochemisch ließ sich Norstictinsäure nicht von α-Methyläthersalazinsäure unterscheiden. Beide Säuren ergeben mit carbonathaltiger Kalilauge die gleichen roten Nadeln (Schindler 1936). In *Parmelia acetabulum* aus verschiedenen

Höhenlagen des Schwarzwaldes wurde nun eine Säure gefunden, die nicht mit Norstictinsäure identisch ist, sondern bei der es sich nur um die erwähnte α-Methyläthersalazinsäure handeln kann.

Lobaria pulmonaria (L.) Hff. vom Feldberg enthält die gleiche Säure neben Norstictin- und Stictinsäure (über das Vorkommen von Norstictinsäure in *Lobaria pulmonaria* vgl. SCHINDLER 1936).

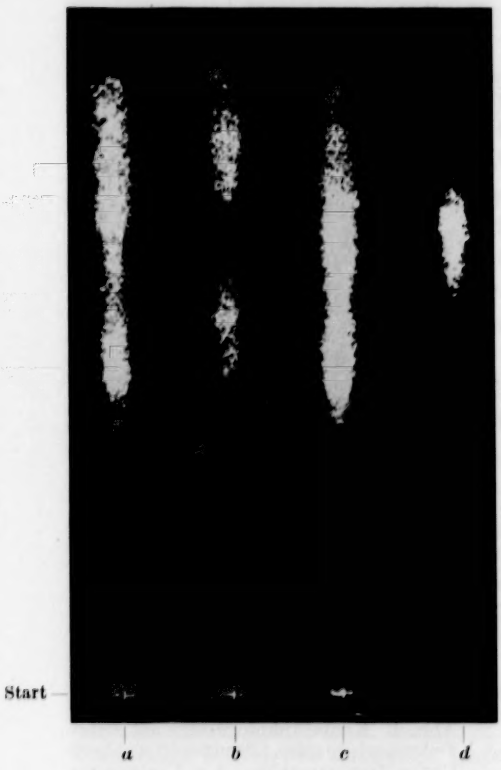


Abb. 2. Technik wie Abb. 1, untere Chromatogrammhälfte. *1* = Norstictinsäure; *2* = α-Methyläthersalazinsäure; *3* = Stictinsäure. — *a* = *Lobaria pulmonaria* (L.) Hffm.; *b* = *Parmelia conspersa* (Ehrh.) Ach. aus 1000 m Höhe; *c* = *Parmelia conspersa* (Ehrh.) Ach. aus 500 m Höhe; *d* = *Parmelia acetabulum* (Neck.) Duby. Extrakte konzentriert

In *Parmelia conspersa* (Ehrh.) Ach. fand MITSUNO (1953) Salazinsäure, WACHTMEISTER (1956) gewann aus ihr Stictinsäure. Eine neuere Gliederung der *Parmelia conspersa*-Gruppe unter Berücksichtigung der chemischen Konstituenten gibt HALE (1955). Im Schwarzwald wurden in 1000 m Höhe Stictinsäure, Norstictinsäure, Usninsäure und Atranorin gefunden, in 500 m Höhe noch zusätzlich α-Methyläthersalazinsäure, so daß *Parmelia conspersa* alle vier oben erwähnten Stoffe synthetisieren kann (Abbildung 2).

Solche Verschiedenheiten in der Flechtenstoffproduktion scheinen es unmöglich zu machen, bei der Papierchromatographie auf Reinpräparate von Flechtensäuren zu verzichten. Wie die erwähnten Beispiele zeigen, halten sich die chemischen Unterschiede jedoch innerhalb gewisser Grenzen. Vergleicht man mehrere Flechten miteinander, die den gleichen Stoff enthalten sollten, so wird man die Entscheidung leicht treffen können.

Zusammenfassung

1. Eine Reihe von Flechtenstoffen wird nach Reindarstellung papierchromatographisch untersucht.

2. Zur Identifizierung und Lokalisation der Flechtenstoffe eignen sich neben bekannten Methoden besonders kurzwelliges UV und stabile Diazoniumsalze. Besonders vorteilhaft ist die Verwendung von Echtblausalz B.

3. Zur Dokumentation der Chromatogramme wird die Photoprint-Technik eingeführt.

4. An Stelle von Reinpräparaten werden Flechten zu Vergleichszwecken herangezogen. Es wird festgestellt, welche Stoffe bei gegebener Extraktionsmethode in den Flechtenextrakten vorliegen. Neue Vorkommen einer Reihe von Flechtenstoffen werden angegeben.

5. Die Variabilität in der Produktion von β-Depsidonen wird besprochen. Chemisch nahe verwandte Substanzen (Stictinsäure, Norstictinsäure, Salazinsäure, α-Methyläthersalazinsäure) können in der gleichen Flechtenart in wechselnden Kombinationen auftreten.

Literatur

ASAHINA, Y.: Flechtenstoffe. Fortschr. Chem. organ. Naturstoffe **2**, 27—60 (1939). — Neue Entwicklungen auf dem Gebiet der Flechtenstoffe. Fortschr. Chem. organ. Naturstoffe **8**, 207—244 (1951). — ASAHINA, Y., and S. SHIBATA: Chemistry of lichen substances. Tokyo 1954. — BOPP, M.: Untersuchungen über die Verteilung und Vererbung von Anthocyan in den Blättern von Begonien. Planta (Berl.) **48**, 631—682 (1957). — BRIEGER, R.: Flechtenstoffe (Flechtensäuren). In G. KLEIN, Handbuch der Pflanzenanalyse, Bd. II/1, S. 413—429 (1932). — CZAPEK, F.: Biochemie der Pflanzen. Jena 1921. — HALE, M. E.: Chemical strains of the lichen *Parmelia furfuracea*. Amer. J. Bot. **43**, 456—459 (1956). — Xanthoparmelia in North America. I. The Parmelia conspersa-stenophylla Group. Bull. Torr. Bot. Club. **82**, 9—21 (1955). — HESSE, O.: Die Flechtenstoffe. In E. ABDERHALDEN, Biochemisches Handlexikon, Bd. 7, S. 32 bis 144. 1910. — KLOSA, J.: Über die antibiotische Wirkung der Flechtenstoffe. Z. physiol. Chem. **287**, 195—204 (1951). — KORTEKANGAS, A. E., and O. E. VIRTANEN: The antibiotic activity of some amino compound derivates of Usnic acid III. Suom. Kemist. **29**, 2—4 (1956). — LAAKSO, P. V., M. GUSTAFSON and O. E. VIRTANEN: The antibiotic activity and color reaction with ferric chloride of some Finnish lichens. Suom. Kemist. **25**, 10—14 (1952). — MARKHAM, R.: Nucleic acids, their components and related compounds. In K. PAECH und M. V. TRACEY, Moderne Methoden der Pflanzenanalyse, Bd. 4, S. 246—304. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955. — MITSUNO, M.: Pharm. Bull. (Japan) **1**, 170 (1953); vgl. ASAHINA, Y., and S. SHIBATA 1954. — NEU, R.: Der Nachweis von Flavonen und ihrer Abbauprodukte mit stabilen Diazoniumsalzen durch Tüpfelreaktionen. Mikrochim. Acta (Wien) **5**, 196—214 (1957). — NEU, R., u. E. NEUHOFF: Eine Methode zur Identifizierung papierchromatographisch aufgetrennter Flavone und ihrer Spaltprodukte, dargestellt am Kämpferol aus *Aesculus Hippocastanum* L. Naturwissenschaften **44**, 10 (1957). — OEHLKERS, F.: Das Leben der Gewächse I. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1956. — PAATSAMA, S., ja S. TALANTI: Otitis-Terapiasta koirilla (On otitis therapy in the dog). Suom. Eläinlääk.-L. **12**, 1—8 (1956). — SCHINDLER, H.: Über das Vorkommen der Norstictinsäure in der Lungenflechte *Lobaria pulmonaria* (L.) Hffm. Ber. dtsch. bot. Ges. **54**, 240—246 (1936). — Inhaltsstoffe und Prüfungsmethoden homöopathisch verwendeter Heilpflanzen. Aulendorf 1955. — Die

Verwendung von Flechten und Flechtenstoffen in alter und neuer Zeit. — SCHWABE, W.: „Aus unserer Arbeit" **2**, H. 4, 7—14 (1956) und H. 5, 12—17 (1957). — Die Inhaltsstoffe verschiedener *Usnea*-Arten unter besonderer Berücksichtigung der Usninsäure. Arzneimittel-Forsch. **7**, 69—72 (1957). — STOLL, A., J. RENZ u. A. BRACK: Antibiotica aus Flechten. Experientia (Basel) **3**, 111—114 (1947). — THIES, W.: Systematische Verbreitung und Vorkommen der Flechtenstoffe (Flechtensäuren). In G. KLEIN, Handbuch der Pflanzenanalyse, Bd. III/1, S. 429 bis 453. 1932. — VIRTANEN, O. E.: Usniinihapon ja sen johdannaisten käyttömahdollisuuksista eläinlääkinnässä (On the possibilities of using Usnic acid and its derivates in Veterinary Medicine). Suom. Eläinlääk.-L. **6**, 2—8 (1956). — VIRTANEN, O. E., and N. KÄRKI: On the toxicity of an Usnic acid preparation with the trade name USNO. Suom. Kemist. **29**, 225—226 (1956). — VIRTANEN O. E., and O. E. KILPIÖ: On the vivo fungistatic activity of an Usnic acid preparation with the trade name USNO. Suom. Kemist. **30**, 8—9 (1957). — VIRTANEN, O. E., M. VÄHÄTALO and A. E. KORTEKANGAS: Usnic acid derivative of 4-amino-3-isoxazolidone (Cycloserin). Suom. Kemist. **29**, 30—31 (1956). — WACHTMEISTER, C. A.: Studies on the chemistry of lichens. I. Separation of depside components by paper chromatography. Acta chem. scand. **6**, 818—825 (1952). — Flechtensäuren. In H. F. LINSKENS, Papierchromatographie in der Botanik. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955. — Identification of lichen acids by paper chromatography. Bot. Not. **109**, 313—324 (1956). — ZOPF, W.: Die Flechtenstoffe in chemischer, botanischer, pharmakologischer und technischer Beziehung. Jena 1907.

Dr. DIETER HESS,
Botanisches Institut der Universität Freiburg i. Br., Schänzlestraße 9—11

Planta, Bd. 52, S. 77—95 (1958)

Aus der Forschungsstelle für Geschichte der Kulturpflanzen
in der Max-Planck-Gesellschaft Berlin-Dahlem

BEOBACHTUNGEN AN EINEM SUBFERTILEN FRAGARIA-KLON*

Von

ELISABETH SCHIEMANN

Mit 17 Textabbildungen

(Eingegangen am 22. Februar 1958)

Im folgenden wird über einen *Fragaria*-Klon mit eigenartig verbildeten Blättern berichtet, der sich lange Jahre (seit 1923) infolge Ausbleibens der Blüte einer genetischen Analyse entzogen hat. Durch einen glücklichen Zufall ist es kurz vor Abbruch des Dahlemer Versuchsgeländes gelungen zu entscheiden, daß es sich nicht um eine vegetativ weitergegebene krankhafte Entwicklungsstörung, sondern um eine erblich fixierte Erscheinung handelt.

Eine im Rahmen von Geschlechtsuntersuchungen (SCHIEMANN 1931) hergestellte Kreuzung zweier oktoploider Gartenerdbeeren, *Fragaria* 6♀ (Sippe Marienfelde) × *Fr.* 3♂ (*Fr. virginiana*, Kollektion DARROW), stand (unter 1922,03) mit 338 Pflanzen zur Beobachtung, von denen einige in der mehrjährigen Beobachtungszeit des Originalbestandes (bis 1929) nur verzögert oder gar nicht zur Blüte kamen. Unter diesen fiel die als *Fragaria* 289 geführte Pflanze durch merkwürdig verbildete Blätter auf, von denen eines (l. c. Fig. 26) im Selbstdruckverfahren abgebildet wurde.

Das Blatt ist dadurch gekennzeichnet, daß an beliebigen Stellen das Wachstum des Mesophylls, bevorzugt nahe dem Rande, an irgendeiner Ader einseitig aufhört, so daß das Blatt häufig wie angefressen aussieht (Abb. 1 u. 2). Dazu kommt, daß auch der regelmäßige Aufbau aus 3 Blättchen gestört ist; monophylle, diphylle Blätter und solche mit verwachsenen Blättchen gehören neben ganz normal ausgebildeten Blättern zum gewöhnlichen Bilde. Das Blatt steht der Mutter *Fr.* 6 näher, durch das feste Laub und besonders die gestielten Blättchen, ein Merkmal, das aus *Fr. chiloensis* stammt.

Die Sippe wurde ab 1926 in starker Klon-Vermehrung gehalten und gab große, kräftige Pflanzen vom Habitus der oktoploiden Elternpflanzen (Abb. 1 u. 3); um so auffallender war das Ausbleiben der Blüte. Von der Originalkreuzung wurden 1925 8 F_2-Familien gezogen und bis 1929 beobachtet; die Spaltungen brachten nichts ähnliches.

* Herrn Professor Dr. OTTO RENNER zum 75. Geburtstag.

Es fiel bald auf, daß die Zahl normaler Blätter gegen Ende der Vegetationsperiode zunahm, häufig so stark, daß es schien, die Pflanze habe die „Schädigung" überwunden (Abb. 3). Trotzdem bot sich im folgenden Jahr an überwinterten Stöcken wie an frischen Absenkern das gleiche abnorme Bild. Das ist seit dem Auftreten 1922 auch bei dem mehrfachen Überpflanzen in andere Umgebung, von leichtem Sand-

Abb. 1. *Fr.* 289. Klon 22. 7. 1929

boden auf schweren Lehmboden oder humose Gartenerde, von Berlin nach Wien und Köln-Vogelsang bis heute (1958) so geblieben.

Dieses Bild konnte sehr wohl als Krankheitserscheinung gedeutet werden, hervorgerufen durch tierische oder pflanzliche Schädlinge oder durch Virus, das bei *Fragaria* sehr charakteristische Blattformveränderungen hervorrufen kann, oder als Mangelerscheinung. Es wurde deshalb in den Jahren 1929/30 mit Spritzmitteln, mit Kalkzusatz u. a. vorgegangen; ohne Erfolg. Auch Erreger oder Überträger konnten nicht festgestellt werden.

Der wiederholt durchgeführte Versuch, durch Selektion nach beiden Extremen eine Abtrennung der „erkrankten" Teile von den gesunden, d. h. normalen zu erreichen, führte zu keinem Erfolg (Näheres s. S. 86 und 92).

Die zweite mögliche Erklärung, daß es sich um eine Mutation handele, konnte nur durch den Mendelversuch verifiziert werden. Dem stand aber das Nichtblühen der Sippe entgegen. Deshalb wurde das umfangreiche aus Absenkern gewonnene Material der Selektionsversuche sehr sorgfältig auf das Vorkommen von evtl. seltenen Blüten hin beobachtet; die Sippe 289 behielt jedoch mit dem deformierten Blatt auch diese Form der „Sterilität" (vgl. l. c. S. 96) bei fortgesetzter vegetativer Vermehrung bei. Es wurde deshalb i. J. 1938 eine größere

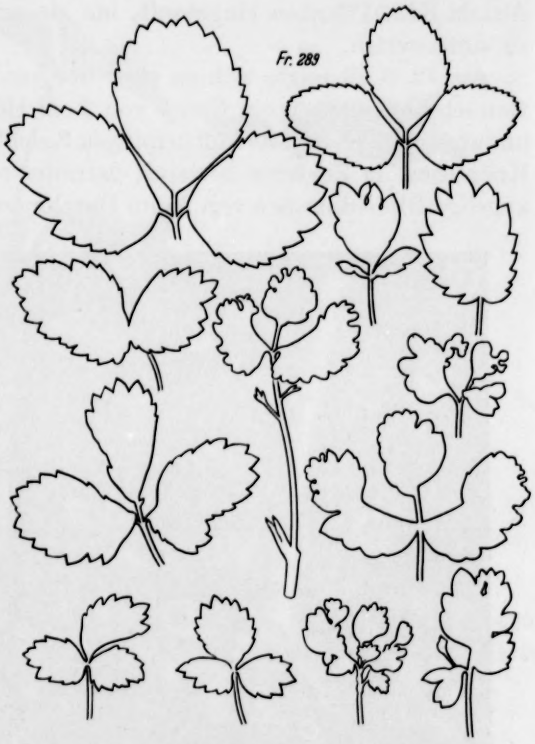


Abb. 2a. Blattumrisse nach Selbstdrucken 1952

Abb. 2b. Blatt-Selbstdruck aus Selektionsversuch nach „abnorm" 1952

Anzahl Klon-Pflanzen eingetopft, um sie einem Verdunkelungsversuch zu unterwerfen.

Am 12. 5. 39 zeigte sich an einer der verdunkelten Topfpflanzen im Gewächshaus (289/6) ein Sproß von 5 cm Höhe mit einer „Blüte", die nur aus einem Kelch mit fünf 3zipfligen Kelchblättern und einem grünen Knöpfchen im Zentrum bestand; darunter rechts und links 2 bleiche, kugelige Blütenknospen von 2 mm Durchmesser — in der Tat ein „Ver-

Abb. 3. Klon 28. 10. 1933 fast normales Blatt, nicht blühend

such, eine Inflorescenz zu bilden". Da aber gleichzeitig auch im Freiland an 9 von den 40 unverdunkelten ein- bis dreijährigen Stecklingen und einer der alten Pflanzen ähnliche „Inflorescenzen" gebildet waren, wurde der Verdunkelungsversuch abgebrochen. Am 24. 5. hatte sich die zwei Sprosse tragende Pflanze im Topf, wie im Bilde (Abb. 4) festgehalten, entwickelt. Der linke Sproß A trägt nur einen Inflorescenz-Zweig mit einer vergrünten Blüte, der ersten des Dichasiums. Der Außenkelch ist als kleine Höcker angelegt und bleibt stummelförmig; der Innenkelch, der auffallendste Teil dieser Blüte, besteht aus 5 kleinen, in eine spitzzipflige Ascidie endenden Blattgebilden an langen, fadenförmigen Stielen; in der Folge ist die Ascidienstruktur häufig zugunsten einer reinen Blattspreite überwunden, wie Abb. 9 von einer Blüte aus dem Jahre 1950 zeigt. Das Gynaeceum ist als kleiner Knopf angelegt.

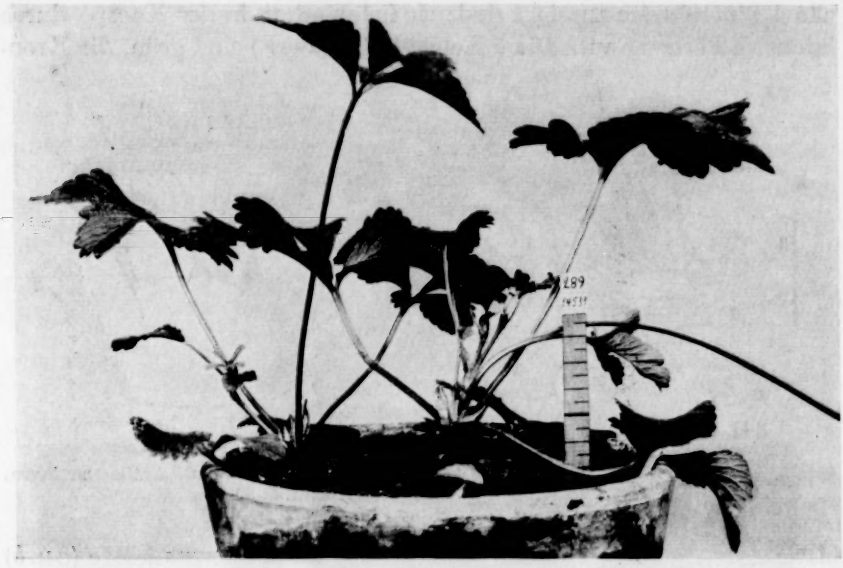


Abb. 4. Erste Inflorescenzen 24. 5. 39

Der rechte Sproß B trägt eine stark gestauchte, reiche Inflorescenz mit 2 im Bilde (Abb. 5) sichtbaren gestielten Blütenanlagen; 2 weitere,

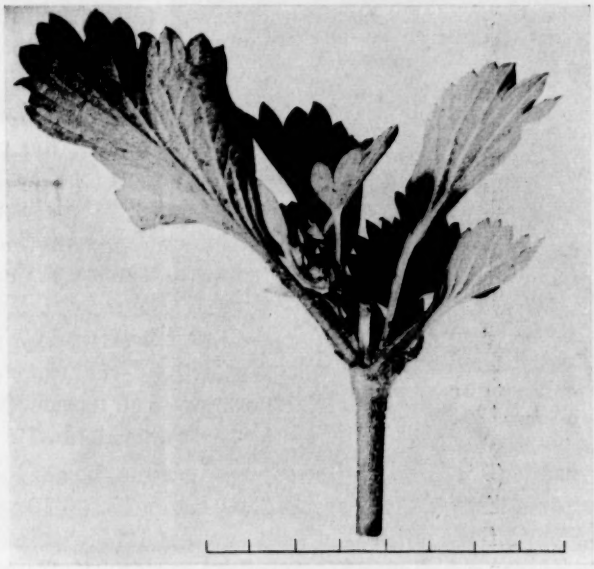


Abb. 5. Inflorescenz von Abb. 4, vergr.

schwächer entwickelte, sind im Bilde verdeckt; eine derselben, im Knospenzustande, wurde gezeichnet (Abb. 6). Die Knospe zeigt, daß

alle 4 Blütenkreise angelegt sind; sie fielen schon in der Knospe durch intensive Färbung auf. Die 5 Kelchblätter (*I—V*) sind grün, die Kron-

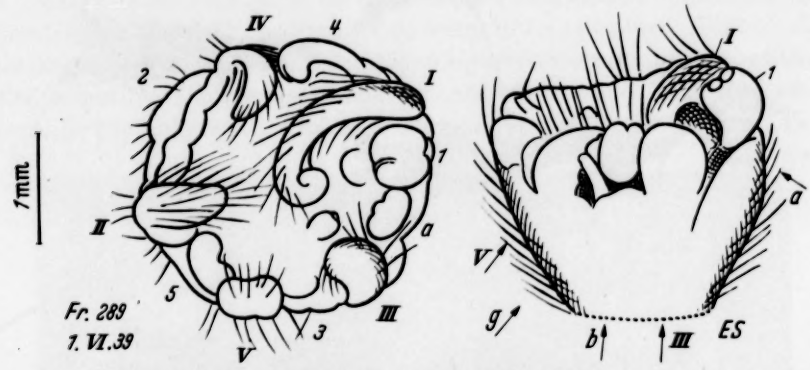


Abb. 6. Erste Knospen; *I—V* Kelchzipfel, *1—5* Kronblattanlagen, *a* u. *b* Antherenanlagen, *g* Griffel mit Narbe, verbogen; 1. 6. 39

blattanlagen gelb mit rotem Rand (*1—5*), die Antherenansätze (*a* u. *b*) rötlich; die Griffel, von denen einer, augenscheinlich verbogen, im Seitenbilde sichtbar ist (*g*) gelb mit rotem Narbenkopf. Diese Farben sind auch bei voller entwickelten Blütenansätzen häufig stark ausgeprägt (abweichend von normalen Knospen); doch kommen immer wieder einheitlich grüne Blütengebilde vor. An einer Freilandpflanze trug die erste Blüte, ähnlich dem obigen Sproß A, lediglich inmitten eines stark vergrößerten Innenkelches ein grünlich-rotes Receptaculum von ca. 2 mm Durchmesser. Herauspräpariert und (später) im Fixat (JUEL) photographiert, zeigt es die ebenso normale Anfangsentwicklung des Gynaeceums (Abb. 7).

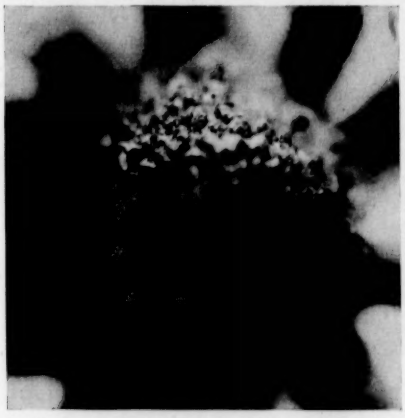


Abb. 7. Gynaeceum in JUEL, mikrophot. 1. 6. 39

Die Kreuzung (6 × 3) war von 1923 ab pflanzenweise bezüglich des Geschlechts protokolliert, 298 Freilandpflanzen von 1924—26 am Originalbestand, 48 Topfpflanzen im Gewächshaus seit 1923, sowie die 30 noch weiterhin in Klonen gehaltenen Stammpflanzen, darunter *Fr.* 289 bis 1929; *Fr.* 289 selbst blieb fortlaufend unter Kontrolle. Es ist daher unwahrscheinlich, daß die an den kräftigen Pflanzen relativ unscheinbaren, meist von den Blättern verdeckten Inflorescenzen vorher nur übersehen waren.

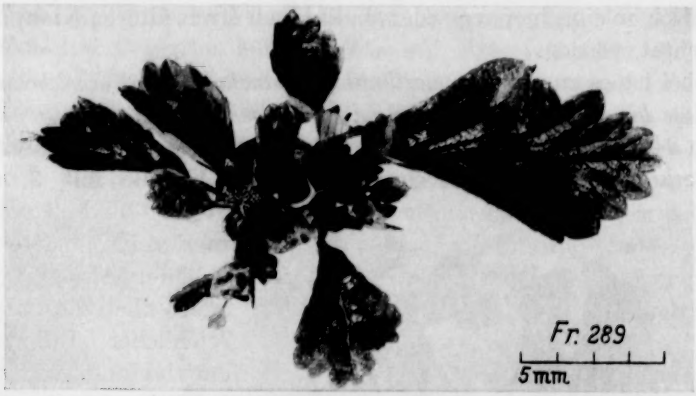


Abb. 8. Erste Blüten mit Antheren 5. 6. 50

Abb. 9a—d. Erste Blüten mit Kronblättern 27. 5. 40; b u. c erste Blüten mit Antheren, Abb. 8 vergr.; d erste normal große Blüte 16. 6. 54, fast vollständig

Seit 1939 ist ein gleichartiges „Blühen" von Jahr zu Jahr (Unterbrechung der Beobachtung in den 40iger Jahren), aber immer nur

sporadisch an einzelnen, vor allem individuell etwas älteren Klonpflanzen beobachtet worden.

Dabei ist es zu einer *ganz allmählich zunehmenden Vervollkommnung der Blüte bis zu fast normaler Ausbildung gekommen.*

Am 24. 5. 1940 hat zum ersten Male eine Blüte ohne Antheren und mit verkümmertem Gynaeceum eine weiße Korolle mit 3 normal großen und 2 verkümmerten Kronblättern ausgebildet (Abb. 9a); in der Folge blieb dies, auch bei reichlicher Inflorescenzentwicklung, wie sie die Selektionsklone i. J. 1950 zeigten, eine Seltenheit; häufig war nur ein Kronblatt ± entwickelt. Auch eine normal aufgebaute Inflorescenz 1954 hat an der einen, voll ausgebildeten Blüte nur ein normales Kronblatt (Abb. 9d).

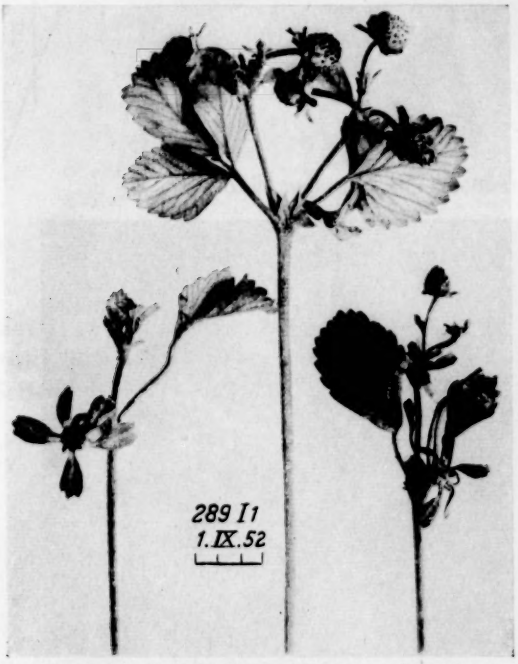


Abb. 10. Drei Inflorescenzen vom 1. 9. 52

Am 5. 6. 1950 wurden die ersten Blüten mit vollen, guten Antheren gefunden und damit der Kreuzungsversuch ermöglicht (Abb. 9b u. c). Der Kelch der Blüte (Abb. 9c) war blattartig, schwach ascidial, die Kronblätter weiß, aber verkümmert, das große Receptaculum dicht mit Nüßchen bedeckt. Die gelben Antheren, nur an einer Seite ausgebildet, gehören meist dem Außenkreis an; sie dehiszierten gut und wurden sogleich zur Bestäubung verwendet (s. unten); die übrigen Antheren waren staminodial entwickelt, ohne ausgebildete Theken oder verkümmert, trocken. Dr. G. STAUDT, dem ich die Bestäubung verdanke, hat auch den Pollen ausgezählt: 3 Antheren gaben 259 morphologisch gut aussehende Körner, 20 geplatzte (aber wohl normale), alle mit dünner Exine, von der Größe der 8x-Pollenkörner.

Zwei weitere Beispiele sollen das Fortschreiten zu normaler Entwicklung demonstrieren:

Am 14. 6. 52 trug eine Pflanze eine Inflorescenz mit 2 in gleicher Höhe entspringenden Dichasien. Die Blüten hatten einen normalen Kelch, mehrere halb ausgebildete Kronblätter, ganz kleine Antheren und ein kräftiges Receptaculum (2,5 mm Durchmesser), das sich bis zum

1. 9. (Abb. 10) zu einem Pseudo-Beerenansatz entwickelte. Diesen, bei den diöcischen Fragarien häufigen Zustand, habe ich (1943, S. 186) als „Reiz-Beere" bezeichnet und zu den männlichen — den weiblich sterilen — Pflanzen gezählt. Wiederholte Bestäubungsversuche an größeren Receptaculi 1940 und 41 und erneut 1955 an weiterentwickelten Blüten hatten mit sippeneigenem Pollen ebensowenig Erfolg wie mit dem der ♀ Stammsippe oder anderer verwandter Sippen. Könnte das ausreichen, die Sippe als ♂ zu

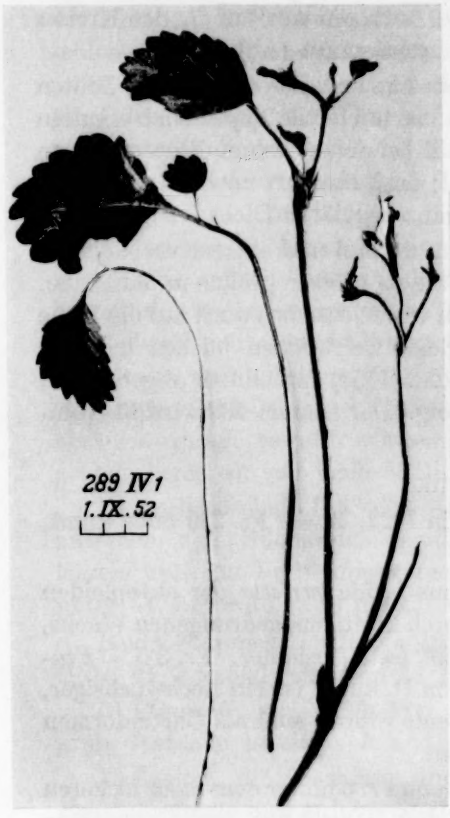


Abb. 11. Stark reduzierte Inflorescenz 1. 9. 52

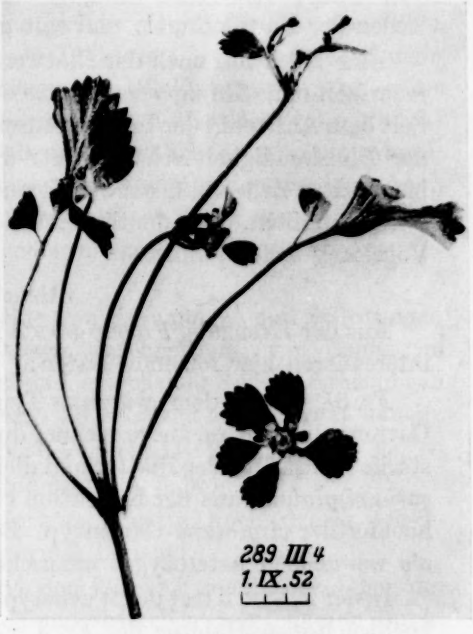


Abb. 12. Wie Abb. 11

bezeichnen? Die Originalkreuzung 6 × 3 hatte 169 ♀♀:169 ♀♂ + ♂♂ ergeben; *Fr.* 289 könnte den letzteren zugehören wegen der (potentiellen) Fähigkeit, fertile Antheren auszubilden; das große Receptaculum aber könnte auf eine zunehmende Funktionsfähigkeit des Gynaeceums hinweisen. Sollte diese sich einstellen, wäre die Sippe als ♀ zu bezeichnen. — An den beiden anderen an dieser Pflanze entwickelten Inflorescenzen (Abb. 10) sind nur Ansätze von Kronblättern entstanden, dagegen verblattete Kelche wie i. J. 1939. Daneben stehen abnorm aufgebaute Inflorescenzen verschiedensten Typs in den Geschwisterklonen (Abb. 11 u. 12), z. T. mit ganz reduzierten Blüten, wie in den ersten Jahren.

Höchst eigenartig ist eine Inflorescenz vom 16. 6. 54. Normal im Aufbau bis zum 2. Gliede des Dichasiums, das eine offene Blüte und eine Knospe trägt, machen diese auch einen normalen Eindruck. Doch trägt die — geschlossene — Knospe I. Ordnung einen einzelnen langgestielten ascidialen Kelchzipfel; an der erstmalig so großen Blüte ist nur 1 Kronblatt voll entwickelt, die 4 anderen absteigend reduziert, 2 sind unsymmetrisch geschlitzt, die Antheren nur auf $^3/_4$ des Kreises voll ausgebildet, im letzten Viertel verkümmert (Abb. 9d).

In der Folge sind noch viele, stets nur teilweise entwickelte Blüten und Inflorescenzen analysiert worden; der subfertile Typus blieb erhalten bis heute, ebenso die große Variabilität bei den einzelnen Blütenorganen von völlig reduziert bis völlig normal; doch hat sich noch keine in *allen* Teilen der Blüte normale und mit ganz regulären Dichasien gefunden.

Eine Selektion nach der Blattform normal und extrem verbildet ist mehrfach ohne Erfolg versucht, zuletzt ab 1950 in größerem Maßstabe. Seit dem Auftreten der Inflorescenzen wurde daneben auch auf die Höhe der Blühfreudigkeit selektioniert. Beide Selektionen blieben indessen bis zu dem Zeitpunkt, als die Versuche (1955) in Dahlem abgebrochen werden mußten, ohne deutlichen Erfolg. Der Stamm 289 wird in Köln-Vogelsang weitergeführt.

Genetik

Aus der Kreuzung *Fragaria* 6×3 in 1922, 3, der *Fr.* 289 entstammt, interessieren hier folgende Daten:

Fr. 6 ♀ gehört dem *chiloensis*-Typus *lucida perfecta* der oktoploiden Gartenerdbeeren an, ausgezeichnet durch kräftigen, gedrungenen Wuchs, starke Konsistenz der Blätter und dicke, feste Ausläufer. *Fr.* 3 ♂ = *Fragaria virginiana* aus der Kollektion von DARROW ist ein hochwüchsiger, hochfertiler *virginiana*-Gartentyp. Beide Sippen sind als Gartenformen als weitgehend heterozygot anzusehen.

In der F_1 6 × 3 trat der Wuchstyp von *Fr.* 6 hinter dem mehr lockeren hochwüchsigen Habitus der *Fr.* 3 zurück. Ohne daß eine Genanalyse durchgeführt wurde, läßt sich die starke Wirkung eines für den *virginiana*-Habitus dominanten Hauptgenes erkennen, neben dem jedoch, entsprechend der Heterozygotie der Eltern, an einzelnen Individuen der mütterliche Einfluß von *chiloensis*-Genen bemerkbar war. Zu diesen Individuen gehört *Fr.* 289 mit ihren kräftigen, dichtbuschigen Rosetten, starklaubigen Blättern und dicken Ausläufern.

Die Bestäubung von *Fr.* 3 mit dem Pollen von *Fr.* 289 stellt für die normalen Anlagen der Eltern also die Rückkreuzung 3 × (6 × 3) dar. Sie gab guten Ansatz. 154 ausgesäte Nüßchen (1951,52) gaben 108 Pflanzen, von denen in den Jahren 1952—54 89 Pflanzen zur Blüte kamen; 4 Pflanzen blühten in dieser Zeit nicht, der Rest starb vorzeitig

ab. Alle Pflanzen waren normalblättrig, mit 3 gut ausgebildeten Blättchen und reichblütig mit normalen Inflorescenzen und großen weißen Blüten; es wurden 43 ♀♀:31 ☿☿:15 ♂♂ oder 43 ♀♀:46 (☿☿ + ♂♂) = nahe 1:1 ausgezählt (cf. 1931, S. 66).

In der Rückkreuzung von *Fr.* 289 auf *Fr.* 3 war das Hervortreten der *virginiana*-Gene gegenüber den *chiloensis*-Genen (bei einer Verteilung der Homo- und Heterozygoten i. V. 1:1), entsprechend der aus F_1 erschlossenen Dominanz des *virginiana*-Typus auch bei den Heterozygoten zu erwarten. In der Tat machte das Beet durch die vier Beobachtungsjahre den Eindruck eines bis auf verschiedene Wüchsigkeit weitgehend *virginiana*-ähnlichen Bestandes. Die noch in *Fr.* 289 steckenden, von *Fr.* 6 herrührenden *chiloensis*-Anlagen 1) konnten erst in weiteren Nachkommenschaften manifest werden. Das gleiche gilt 2) für den abnormen Blattypus wie 3) für den abnormen Blühtypus. Ob diese Merkmale 2) u. 3), die sich in keinem Individuum der Rückkreuzung manifestiert hatten, durch die Dominanz von Normal-Genen überdeckt (also erblich) oder durch den Geschlechtsakt als nicht erblich ausgemerzt waren, konnte nur durch weitere Folgegenerationen entschieden werden. Auch die Frage, ob (falls erblich) beide Abnormitäten durch das gleiche Gen, also gemeinsam vererbt würden, oder ob zwei getrennte Anlagen zugrunde lagen 4), war noch offen.

Es wurde deshalb 1953 eine Reihe von Kreuzungen und Selbstungen zwischen den Rückkreuzungspflanzen durchgeführt, von denen im letzten noch zur Verfügung stehenden Versuchsjahr 1954 2 Kreuzungen unter 54, 55 und 54, 56 mit 20 bzw. 80 Pflanzen zur Aussaat kamen.

Beide Nummern spalteten 1955 bezüglich des Wuchstypus. 54, 56 (Pflz. 61 ♀ × 56☿) gab von 78 Pflanzen (25. 5. 55)

65 Pflanzen: *virginiana*-Typ, lockere Rosette, hochwüchsig, frischgrün, fast alle bereits voll und normal blühend,

13 Zwerge, die frischgrün durch den Winter kamen, aber wegen der Frühjahrsfröste im Laub verdorrten und abstarben; nur 5 kamen durch; 1 derselben, *Fr.* 4605, wurde in den Botanischen Garten verpflanzt, blühte normal und reifte 2 kleine Beeren von 8—10 mm Durchmesser aus, ging aber mit 2 Klonpflänzchen im Winter 56/57 ein.

Die 13 Zwerge = 20% machen bei der geringen Anzahl monofaktorielle Spaltung für den Wuchstypus wahrscheinlich.

Die zweite Kreuzung (Pflz. 22 ♀ × 40 ♂) umfaßte in 54,55 nur 18 Pflanzen, davon am 25. 5. 55 (Abb. 13).

17 Pflanzen: *virginiana*-Typ von teils üppigem, teils mittlerem Wuchs.

1 Pflanze: Nr. 12 zwergig; sie bildete eine kleine, dichte, ziemlich flache Rosette mit kräftigen, schwach nach Typ 289 verbildeten Blättern (Abb. 15) von dunkler Farbe. Sie vertritt somit trotz des zwergigen

Wuchses den *chiloensis*-Typus, der in *Fr.* 289 steckt; sie hat die Stammnummer *Fr.* 4588 erhalten (Abb. 14).

Abb. 13. Absaat aus der F_1R (3 × 289) in 54,55. 26. 5. 55.

Die Blattrisse der absterbenden Originalpflanze sind nach gepreßten Blättern gezeichnet. Abb. 13 zeigt diese Pflanze, vorn halb rechts, zwischen normalen, blühenden Geschwistern, 1 halbhohe dahinter, beide nicht blühend; Abb. 14 auf dem Beet isoliert in stärkerer Vergrößerung.

Abb. 14. *Fr.* 4588 aus dem Beet in Abb. 13

Bis zum 27. 6. 55 war die Blüte des Beetes beendet; sie ergab (nb. 1. Blütejahr!) 8 ♀♀ + 3 ♂♂ + 5 nichtblühend mit normalem Laub + 1 nichtblühend mit reduziertem Laub, nämlich *Fr.* 4588.

Fr. 4588 entwickelte einen Ausläufer mit wenigen kleinen Absenkern und starb dann ab. Drei Absenker wurden 1955 mit zwei normalen Geschwistern 4589 und 4590 (zu dem Zwerg 4605) in den Bot. Garten verpflanzt, einen Absenker nahm Dr. STAUDT nach Köln-Vogelsang mit. Diese Pflanze hat dort am 24. 7. 56 *geblüht mit der typischen Inflorescenz der Fr. 289*; in Abb. 16 ist diese Inflorescenz, neben einer von *Fr.* 289, gleichfalls aus Vogelsang 1956, nach gepreßtem Material photographiert; an letzterer ist beachtenswert, daß die

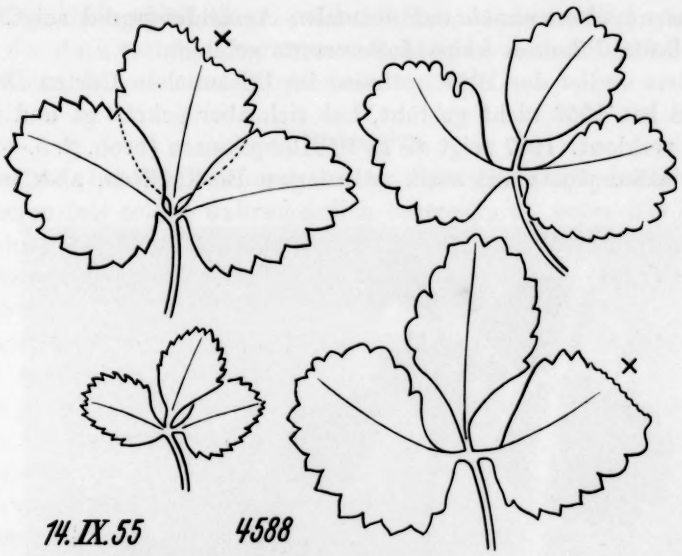


Abb. 15. *Fr.* 4588, Blattumrisse nach gepreßtem Material; bei × abgebrochen. 14. 9. 55

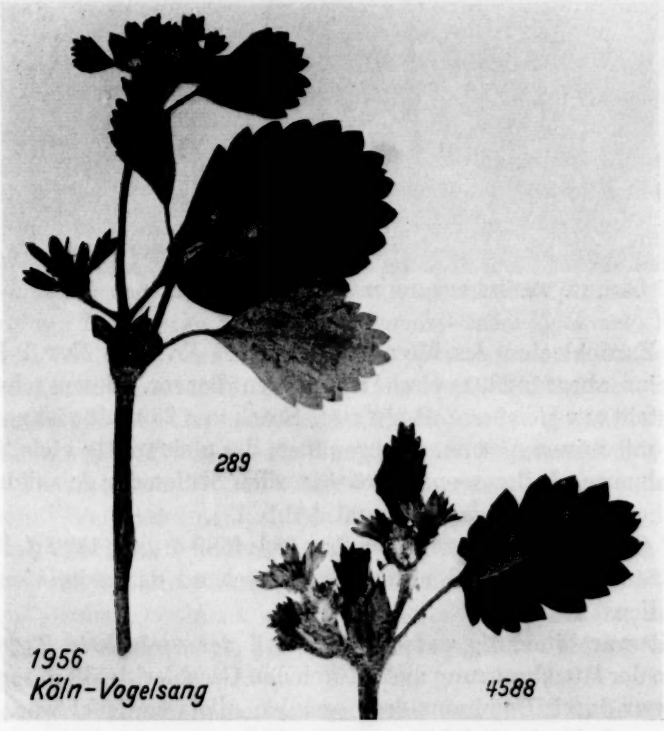


Abb. 16. *Fr.* 289 u. *Fr.* 4588, blühend 1956 in Köln-Vogelsang

Inflorescenz einen annähernd normalen Ausbildungsgrad zeigt. 1957 haben beide Pflanzen keine Inflorescenz gebildet.

Anders verlief der Blührhythmus im Botanischen Garten Dahlem. *Fr.* 4588 hat 1956 nicht geblüht, hat sich aber gekräftigt und wurde stärker verklont. 1957 zeigt sie in 16 Klonpflanzen (beob. 2. 5.—29. 8.) das verbildete Blatt mit stark reduzierten Blatthälften, aber weniger

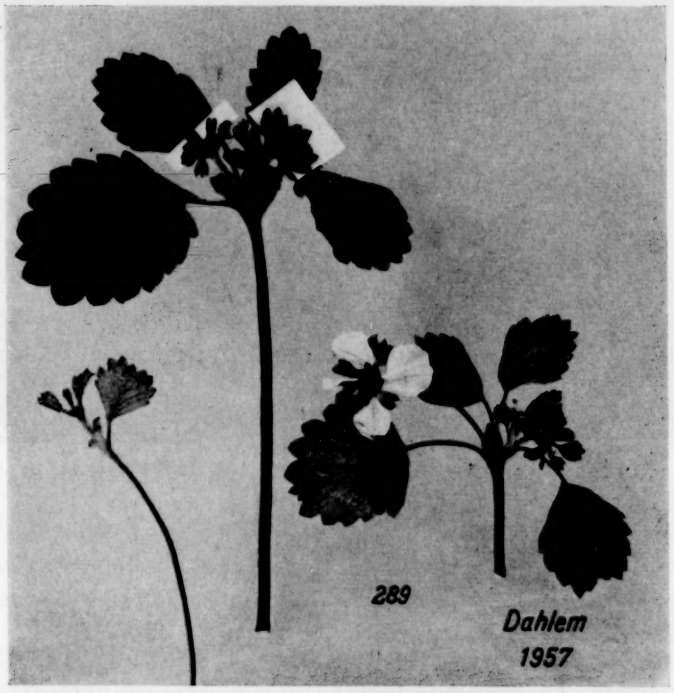


Abb. 17. *Fr.* 289 blühend 1957 in Berlin-Dahlem, Bot. Garten

starkem Zurücktreten des Mesophylls wie bei *Fr.* 289. Nur 1 Pflanze brachte eine, aber für 289 typische Inflorescenz hervor. Diesem schwachen Blühen steht zur gleichen Zeit ein alter Stock von 289 mit viel normalen Blättern mit seinen Absenkern gegenüber, der gleichzeitig viele kräftige typisch abnorme Inflorescenzen trägt in allen Stufen der Ausbildung der Blüte, abgesehen von ganz normal (Abb. 17).

Die 2 Geschwisterpflanzen von *Fr.* 4588:4589 ♂ und 4590 ♂ blühten schon 1956 vollblütig und normal, entsprechend dem *virginiana*-ähnlichen helleren Laub.

Damit war eindeutig entschieden, daß *der veränderte Typus von Fr. 289* in der Rückkreuzung nicht durch den Geschlechtsakt ausgemerzt, sondern nur durch Dominanz des normalen Allels verdeckt war. Er ist also nicht auf eine hartnäckig vegetativ übertragene Modifikation, etwa

eine Krankheitsschädigung, zurückzuführen, *sondern erblich, genbedingt.* Auch der stark variable Charakter, sowohl im Laub als in der Inflorescenz und Blüte, hat sich im Erbversuch bestätigt.

Diskussion

Fr. 289, bei der Kreuzung zweier diöcischer oktoploider Gartenerdbeeren (als solche wahrscheinlich heterozygot), unter 338 Pflanzen als Abweicher herausgespalten, und die aus einer Rückkreuzungsnachkommenschaft gewonnene gleichartige *Fragaria* 4588 zeigen folgende Merkmale:

1. mosaikartig verteilte Hemmung des Blattmesophylls;
2. abnorme Inflorescenz;
3. partielle Unterdrückung bzw. Umwandlung von Blütenkreisen;
4. Herabsetzung der Blühfreudigkeit, d. h. Störung des rhythmischen Übergangs von der vegetativen zur generativen Phase;
5. eine starke Variabilität der unter 1—4 genannten Merkmale, unter die auch die geringere Ausprägung des Blattmerkmals in *Fr.* 4588 fällt.

Allen diesen morphologischen Erscheinungen liegen Entwicklungsstörungen zugrunde, letzten Endes also eine physiologische Ursache. Für die Entstehung kommen verschiedene Möglichkeiten in Frage:

1. Mit Sicherheit konnte als Ursache die nicht erbliche Modifikation durch Krankheitserreger welcher Art auch immer ausgeschaltet werden.

2. bleibt als Ursache eine — physiologische — Mutation eines pleiotrop wirkenden Gens für normale Entwicklung in ein Allel, das die normale Entwicklung in verschiedenen Organen der Pflanze spezifisch hemmt, also sehr früh in der Ontogenese zur Auswirkung kommen muß. Diese Mutation kann im ♀ Gameten (von *Fr.* 6) oder im ♂ Gameten (von *Fr.* 3) vor sich gegangen sein, die bei der Kreuzung (6 × 3) in ihrer Vereinigung das — einsamige — Nüßchen zeitigten, aus dem die abnorme Pflanze 289 hervorging. Das starke Überwiegen der *chiloensis*-Merkmale in *Fr.* 289 und *Fr.* 4588 deutet darauf hin, daß mit dem veränderten Gen auch eine größere Anzahl unveränderter *Fr.* 6-Gene fest verknüpft ist, also wohl mit ihm im gleichen Chromosom übertragen wurde. So dürfte die Mutation eher am ♀ Gameten der *Fr.* 6 erfolgt sein; bei normalem ♂ Gameten aus *Fr.* 3 müßte sie in *Fr.* 289 heterozygot manifest geworden, also dominant sein. Wegen der mangelnden Fertilität der Sippe bis zum Abbruch der Versuche konnte indessen nicht geprüft werden, ob *Fr.* 289 (und ebenso *Fr.* 4588) für das ihre Natur bestimmende Gen homo- oder heterozygot ist; einer Dominanz widerspricht die Rückkreuzung, in der die Abnormität verschwindet, um erst in einer weiteren Generation wieder herauszuspalten.

Es liegt vielmehr nahe, anzunehmen, daß *Fr.* 289, die als einziger Abweicher unter 338 normalen Individuen auftrat, für das veränderte

Gen eine recessive homozygote Mutante darstellt. Das weitgehende Hervortreten von *chiloensis*-Merkmalen in Habitus und Laub läßt auch bei dieser Ableitung annehmen, daß die Mutation in dem ♀ Elter, *Fr.* 6, vor sich gegangen ist. Für ihre Entstehung kommt der von STUBBE (5, S. 131) unter 4) angeführte Fall in Frage: daß nämlich die Mutation in der Ascendenz der Elternpflanze schon weit zurückliegt, daß „ihre phänotypische Manifestierung aber infolge unbekannter Verhältnisse nicht ermöglicht wurde, daß die Mutation ‚maskiert' war." Wodurch sie bei der Kreuzung mit *Fr.* 3 „frei" wurde, entzieht sich, ohne weitere Versuche, der Beurteilung.

Es sei hier an die durch 9 Generationen kryptomer mitgeführte fil-Mutante von *Antirrhinum majus* erinnert (SCHIEMANN 1940, S. 71), die bei Einkreuzung der *graminifolia*-Sippe — in 5 nachgewiesenen Fällen — manifest wurde. Bei der hohen Polyploidiestufe der beteiligten Fragarien (8x) ist ein verdecktes Mitschleppen um so verständlicher.

Auch die vierte Frage, wieweit die komplexe Erscheinung, das pleiotrope Gen, sich in Einzelkomponenten auflösen läßt, konnte bis zu dem Punkt, zu dem die Analyse geführt werden konnte, nicht gelöst werden. Es hat fast den Anschein, als ließe sich das Blattmerkmal von dem hartnäckigeren Inflorescenzmerkmal trennen. Hierzu wären weitere Selbstungen, Geschwister- und Rückkreuzungen, verbunden mit Selektion erforderlich — und weiter gesteigerte Fertilität!

Worin aber besteht die „physiologische Mutation?"

Hierzu scheint sich mir eine Parallele in der von RENNER (1953) beschriebenen monogen recessiven Mutante *Oenothera hybrida mut. helix* zu bieten, für die der Autor eine Störung des Wuchsstoffsystems annimmt, die durch CHROMETZKA (1955) experimentell sichergestellt werden konnte.

Wenn auch im vorliegenden Fall derartige Untersuchungen nicht angestellt werden konnten, so zeigt die Erscheinung doch eine Reihe von Analogien, die auf eine gleiche Ursache schließen lassen.

In beiden Fällen liegt, wie gezeigt, eine ontogenetisch sehr früh wirkende Entwicklungshemmung vor. So ist bei *Fragaria* neben der Formbestimmung der Blätter die Anlage der Inflorescenztriebe zur Zeit der normalen Blühfähigkeit bis auf seltene Ausnahmen unterdrückt. — Weiterhin weist das Nebeneinander von gestörter und ungestörter Entwicklung (aus unbekannter Ursache) sowohl im Laub wie in der Blüte auf einen quantitativ wirkenden Faktor wie er im Wuchsstoffgehalt normaler Pflanzen gegeben ist. Ob es sich dabei um einen Mangel oder wie bei *Oenothera* um einen Überschuß an Wuchsstoff handelt, bleibt dabei offen; die Analogie in der Hemmwirkung macht das letztere wahrscheinlich, zumal in der Ausbildung der extrem großen Kelche ja auch ein Proliferieren, entsprechend etwa der Epinastie der Blätter in der *helix*-Mutante gegeben ist.

Teratologisch ist die Natur der 289er Inflorescenzen nur mit Einschränkung in die Kategorie der Phyllodien einzureihen. Dabei ist der dichasiale Aufbau der Inflorescenzen, wie er bei beiden Eltern (entsprechend dem von *Fragaria vesca* bekannten) verwirklicht ist, weitgehend gestört. In *Fr.* 289 sind die einzelnen Dichasialäste vielfach nicht nur reduziert, sondern phyllodial oder ascidial ausgebildet — oder sie sind so stark gestaucht, daß die Inflorescenz pleiochasial wirkt.

Im Gegensatz dazu bewahrt die Blüte selbst sowohl ihre Symmetrie als die Funktion ihrer Organe. Es handelt sich also nicht um eine der so häufig auftretenden „Umwandlungen" eines Blütenkreises zugunsten der Funktion eines andern, wie in petaloiden oder carpelloiden Antheren u. ä.; bei aufgehobener Hemmung kann sich vielmehr das Organ, stufenweise, zu voller Funktionsfähigkeit gemäß seiner Bestimmung entwickeln. Der Ausdruck Phyllodie trifft also für die Blüte als Ganzes nicht zu.

Höchstens kann man die Vergrößerung und häufig ascidiale Ausbildung des Innenkelches unter den Begriff der Phyllodien stellen; auch er wahrt dabei die Symmetrie (Abb. 9b u. c). Masters zählt (1869, S. 250) *Fragaria spec.* unter die Arten mit den meisten Kelchphyllodien. Bei *Fragaria* bilden die ersten Frühjahrsblüten häufig einen von uns so genannten „Zierkelch" mit vergrößertem und dreizipfligem Innen- und Außenkelch. Als konstantes Merkmal trifft dies bei verschiedenen Stämmen der *Fragaria monophylla* zu und ist dort nicht auf die erste Blüte beschränkt. Auch dabei ist die reguläre Pentamerie gewahrt; es kommt jedoch nicht zu der ausgesprochen teratologischen Ausbildung von Ascidien wie bei Fr. 289.

Ein besonderes Interesse verdient die *allmähliche Zunahme der Fertilität und normalen Morphologie*, die sich im Laufe von mehr als 35 Jahren steter Klonvermehrung eingestellt hat, ohne zur Konstanz zu kommen. Es seien die Etappen für die Blüte deshalb nochmals kurz zusammengestellt:

1922—1939 nicht blühend.

24. 5. 39, erster „Versuch, eine Inflorescenz zu bilden";

a) knöpfchenartiges Receptaculum in verblatteter, ascidialer Blütenhülle (Kelch);

b) Gynaeceum bis 2,6 mm Durchmesser mit gut entwickelten jüngsten Samenanlagen und Griffeln. Kelch wie in a); Bestäubung erfolglos (vielleicht ♂ Geschlecht?).

25. 5. 40, erste Blüten mit weißen Kronblättern; Form und Zahl wechselnd, 1—5.

5. 6. 50, erste Blüten mit gut entwickelten fertilen Antheren; Zahl wechselnd, Pollen gut; genetische Prüfung ermöglicht.

16. 6. 54, erste Blüte und Inflorescenz fast normal.

Alle Zustände haben sich bis heute immer wiederholt, ohne daß sich eine leitende Ursache für den Fortschritt zu normal erkennen ließ; auch ist das „Blühen" immer eine seltene Erscheinung geblieben.

Mir ist aus der Literatur kein ähnlicher Fall bekannt geworden. Am nächsten kommt ihm wohl das von F. v. WETTSTEIN (1937) beschriebene Fertilwerden einer polyploiden Sippe von *Bryum caespiticium*, die im Laufe von 11 Jahren von einem völlig sterilen (vegetativen) Rasen zur Ausbildung normaler Sporogone mit keimfähigen Sporen überging[1]. Die Stufenfolge der Vervollkommnung erinnert in der Tat sehr weitgehend an die bei *Fr.* 289 beobachteten Stadien. Sie sei hier kurz im Anschluß an v. WETTSTEIN (l. c. S. 41) dargestellt:

Die durch Regeneration aus dem Setahals gewonnenen bivalenten Gametophytenrasen bilden im allgemeinen nur selten Sporogone; ihre Sporen sind nur bis 0,1% keimfähig. Ein auf diese Weise 1926 gewonnener ♀-Rasen entwickelte im ersten Jahr nur Antheridien, vom 2. Jahr ab auch Archegonien — viele von diesen setzten „als kleine Stiftchen auch mit freiem Auge erkennbare" junge Embryonen an, die bald abstarben — in den folgenden Jahren werden die Seten länger — danach treten vereinzelte Kapseln auf — später mehr; zunächst kümmerlich — allmählich besser ausreifend — bis sie 1937 „durchaus fertil waren".

v. WETTSTEIN konnte das Wesen der Erscheinung erklären durch die sie begleitende allmähliche Verringerung des Zellvolumens vom *gigas*-Charakter der bivalenten Sippe zu dem Zellvolumen des normalen Haplonten. Dies führt zur Regulierung der Kernplasmarelation bis zu normaler Größe der natürlichen *Bryum*arten. Der Vergleich der vegetativen Nachkommenschaft ergab, daß bei diesem Umwandlungsprozeß Chromosomenzahl und Genotypus unverändert geblieben waren.

v. WETTSTEIN sah darin ein Modell für einen natürlichen Artbildungsprozeß, der eine Erklärung für das so häufige Vorkommen von polyploiden Arten ohne *gigas*-Charakter gegenüber den ihnen verwandten Diploiden gibt.

Bei weitgehender Ähnlichkeit des Erscheinungsbildes baut die Veränderung von *Fr.* 289 doch auf einem anderen Grunde auf. Der Habitus der Pflanze bleibt von Anfang an im Rahmen der oktoploiden Elternsippen ($2n = 56$). Genaue cytologische Untersuchungen sind nicht durchgeführt worden. Der ganz normale Verlauf der Rückkreuzung und der Kreuzungen innerhalb ihrer Nachkommenschaft läßt aber auf eine unveränderte Chromosomenzahl und -struktur (mit in der Folge regulärer Reduktionsteilung) schließen.

Dies alles sowie das erneute Herausspalten der Abnormität läßt diese am besten als rezessive Genmutation verstehen.

Die letzte Ursache der allmählichen Veränderung, „was sich dahinter verbirgt", mußte auch v. WETTSTEIN offenlassen.

[1] Diesen Hinweis verdanke ich Herrn Prof. Dr. GUSTAFSSON, Stockholm.

Zusammenfassung

Aus der Kreuzung zweier oktoploider Gartenerdbeeren vom Typ der *Fragaria chiloensis* bzw. *virginiana* wird eine Pflanze mit teratologisch verbildeten Blättern (Reduktion des Mesophylls) beschrieben, die von 1923—1939 in Klonvermehrung nicht zur Blüte kam. Die Blattanomalie ergreift nie die ganze Pflanze, läßt gegen Ende des Sommers nach, konnte aber durch Selektion nach normal bzw. extrem abnorm nicht zur Konstanz gebracht werden.

Von 1939—52 wurde eine in Richtung auf normal zunehmende Ausbildung von stets nur selten gebildeten Inflorescenzen und Blüten festgestellt, ohne daß bis heute ein völlig normaler Zustand erreicht ist.

Als 1952 erstmalig normale Antheren mit Pollen gebildet wurden, konnte durch Rückkreuzung auf den *virginiana*-Elter in der Folgegeneration das erbliche Verhalten der Anomalie nachgewiesen und die Annahme, daß es sich um eine vegetativ weitergegebene Krankheitserscheinung handele, ausgeschlossen werden.

Die normale Anlage aller 4 Blütenkreise in den ersten nicht weiter aufgeblühten Knospen von 1939 sowie die morphologische Ausbildung der ± defekten Blüten zeigt, daß es sich nicht um eine der bekannten Phyllodien oder Funktionsumwandlungen eines Blütenkreises handelt, sondern um eine erbliche Entwicklungsstörung (Hemmung), die auf verschiedenen Stufen der Ontogenese eingreift. Als Ursache der Hemmung wird eine recessive Mutation angesehen, welche den normalen Wuchsstoffhaushalt der Pflanze verändert.

Eine Ursache für die allmähliche Normalisierung konnte bis zum Abbruch der Versuche nicht gefunden werden.

Analoge Erscheinungen bei v. Wettstein und Renner werden diskutiert.

Literatur

Chrometzka, P.: Zur Kenntnis der Morphologie und des Wuchsstoffverhaltens der *Oenothera hybrida helix*. Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-Lehre **87**, 267—297 (1955). — Masters, M. T.: Vegetable Teratology. 1869. — Renner, O.: Über *Oenothera hybrida mut. helix*. Planta (Berl.) **42**, 30—41 (1953). — Schiemann, E.: Geschlechts- und Artkreuzungsfragen bei *Fragaria*. Bot. Abh. **18** (1931). — *Antirrhinum majus*, mut. filiforme, zugleich ein Beitrag zur Chimärenfrage. Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-Lehre **79**, 50—82 (1940). — Artkreuzungen bei *Fragaria*. III. Die vesca-Bastarde. Flora (Jena) **37**, 166—192 (1943). — Stubbe, H.: Genmutation. I. Allgemeiner Teil. Handbuch der Vererbungswissenschaft, Bd. II F. 1938. — Wettstein, F. v.: Zellgrößenregulation und Fertilwerden einer polyploiden *Bryum*-Sippe. Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-Lehre **74**, 34—53 (1937).

Prof. Dr. E. Schiemann,
Berlin-Wilmersdorf, Binger Str. 11

Planta, Bd. 52, S. 96—120 (1958)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Rostock

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN WUCHS- UND HEMMSTOFF-GEHALT RUHENDER UND TREIBENDER KNOSPEN VON SYRINGA VULGARIS L.

Von

HERMANN VON GUTTENBERG und HEINZ LEIKE

Mit 7 Textabbildungen

(Eingegangen am 17. April 1958)

A. Einleitung

Die Knospen vieler Holzpflanzen besitzen eine ausgeprägte autonome Ruheperiode (PFEFFER 1904). Die Tiefe und Dauer der Ruhe sind bei den Arten unterschiedlich. Sie bildet sich während des Sommers aus (Vorruhe), erreicht ihre größte Tiefe im Spätherbst zur Zeit des Laubfalles (Mittelruhe) und beginnt danach langsam abzuklingen (Nachruhe). Für den Flieder macht JOHANNSEN (1900) folgende Angaben: Vorruhe: Juni bis August; Mittelruhe: September bis Oktober; Nachruhe: November bis Dezember. Im Januar hat der Flieder seine autonome Ruhe beendet, und nur die tiefen Außentemperaturen verhindern noch ein sofortiges Treiben. Die Knospen befinden sich in „gezwungener Unwirksamkeit" (JOHANNSEN 1900) oder aitionomer Ruhe (PFEFFER 1904). Die Entdeckung der Wuchsstoffe (im folgenden WS) führte zu der Annahme, diese könnten mit der Ausbildung und Beendigung der Ruhe verwickelt sein. Dafür sprachen vor allem die wiederholt gefundenen WS-Mengen im Frühjahr. Für die darauf bezügliche Literatur gibt es neuere Zusammenfassungen von SÖDING (1952), DOORENBOS 5(193) und SAMISH (1954), auf die hier verwiesen werden kann. Die im Zusammenhang mit dieser Arbeit besonders wichtigen Publikationen werden in der Diskussion ausgewertet werden.

In neuerer Zeit wurde es wahrscheinlich, daß auch Hemmstoffe (im folgenden HS), als IES-Antagonisten (IES steht im folgenden für β-Indolylessigsäure), für die Ausbildung der Ruhe verantwortlich sind. Schon LINSER (1940) konnte in Fliederblätterextrakten einen sehr hohen HS-Gehalt nachweisen und zeigen, daß der HS antagonistisch zu IES wirkt, indem er ein Streckungswachstum und die Bewurzelung unter dem Einfluß von IES verhindert. Ausgehend von seinen Arbeiten an der Kartoffelknolle (HEMBERG 1947, 1949a, 1952) konnte HEMBERG (1949b) im Ätherrohextrakt von *Fraxinus*-Knospen Anfang Oktober reichlich HSe nachweisen, die sich gegen Ende der Ruheperiode, Anfang Februar, stark verminderten. Wurde mit Äthylenchlorhydrin als Treibmittel die

Ruhe unterbrochen, so waren schon 5 Tage nach der Behandlung die HSe auf $^1/_6$ des ursprünglichen Gehaltes zurückgegangen. HEMBERG nimmt an, daß die Menge des HS die Dauer der Ruheperiode bestimmt. Der HS wurde unter Beigabe einer bestimmten IES-Konzentration ermittelt. STEWARD and CAPLIN (1952) konnten HSe u.a. auch in *Acer*-Knospen nachweisen. Zum Test benutzten sie unter besonderen Bedingungen kultiviertes Karottengewebe. Im Herbst war die so ermittelte HS-Konzentration in den Ahornknospen sehr groß, sie verminderte sich nach Einwirken des winterlichen Frostes und verschwand kurz vor dem Schwellen der Knospen völlig. Auch POLLOCK (1953) vertritt die Ansicht, daß einem HS die primäre Bedeutung bei der Ausbildung der Ruhe zukommt. HENDERSHOTT and BAILAY (1955) fanden mit Hilfe des Erbsenwachstumstestes (GALSTON and HAND 1949) unter Zugabe einer bestimmten IES-Konzentration HSe in Pfirsichblütenknospen. Sie untersuchten den Gehalt in Abhängigkeit von der Jahreszeit. Der HS-Gehalt zweier Sorten zeigte im Prinzip übereinstimmend im Februar ein Maximum, innerhalb einer Woche ein Absinken auf das Minimum, um dann kurz vor der Blüte wieder ein Maximum zu erreichen. Dieser eigenartige Verlauf der Jahreskurve läßt keine Deutung eines Zusammenhanges zwischen HS-Gehalt und Ruheperiode zu. METZNER (1956) fand in dem neutralen Extrakt von Fliederterminalknospen mit den Methoden HEMBERGs ebenfalls ein Minimum des HS-Gehaltes Mitte März, zur Zeit des größten WS-Gehaltes, dann im Mai eine schnelle Zunahme des HS-Gehaltes, der dieselbe Höhe erreichte, wie im Herbst und Winter. Darauf blieb der Gehalt unverändert.

Die widerspruchsvollen Ergebnisse der letzten Arbeiten machten eine weitere Behandlung dieser Fragen wünschenswert. Wir stellten uns daher folgende Aufgaben:

1. Den jahreszeitlichen Verlauf des HS- und WS-Gehaltes der Fliederknospen in Extrakten und gleichzeitig mit der Abfangmethode (Diffusat) festzustellen.

2. Die Beziehung des HS-Gehaltes zur autonomen Ruheperiode aufzudecken.

3. Das Wechselspiel zwischen HS und WS zu verfolgen.

4. Durch Treibversuche eine Vergleichsmöglichkeit für die Verhältnisse beim natürlichen Treiben zu schaffen.

B. Material und Methode

1. Material. Erwachsene Sträucher von *Syringa vulgaris* und junge 2—4 m hohe Bäumchen von *Acer pseudoplatanus* lieferten die für die Untersuchung benötigten Knospen. Hauptversuchsobjekt war der Flieder. Für die Aufstellung der Jahreskurve des Gehaltes an HS und WS wurden Terminalblütenknospen von *Syringa* verwandt, da sie in ausreichender Menge für ausgedehnte Experimente vorhanden waren. Zum Vergleich dienten Blatterminalknospen, die von 1—2 m

hohen Wurzelschößlingen entnommen wurden. Kleinere Terminalknospen wurden vor der Extraktion aussortiert, da sie ebenso wie Lateralknospen oft keine oder nur eine schwach ausgebildete autonome Ruheperiode besitzen (SIMON 1906). Um die Fehler gering zu halten, wurden die Knospen stets aus gleicher Höhe gepflückt, wobei gleichzeitig darauf geachtet wurde, daß sie weder in extremen Sonnen- noch Schattenlagen aufgewachsen waren. Für den regelmäßigen Jahrestest wurden nur wenige Sträucher benutzt, von denen alles vergleichbare Material abgeerntet wurde. Leider war es wegen der benötigten großen Menge der Knospen nicht möglich, von September bis Mai bei einem einzigen Strauch zu bleiben. Große Unterschiede zwischen verschiedenen Sträuchern konnten zum gleichen Zeitpunkt allerdings nie beobachtet werden.

2. Extraktionsmethoden. In der Regel wurden die Knospen gegen Mittag gepflückt, sofort gewogen und mit aqua dest. gewaschen. Für den Test wurden bei Serienversuchen 4 g Material mit der Rasierklinge zerkleinert und in 40 ccm Äther gebracht, dann pro Gramm Frischgewicht noch ein Tropfen 10%ige Essigsäure hinzugefügt. Der Äthyläther hatte sich auch als ideales Extraktionsmittel für den HS erwiesen. (Für sämtliche Extraktionen und auch für die spätere Fraktionierung wurde stets Äther pro narcosi vom VEB Schering, Berlin Adlershof, verwendet.) Die Extraktionszeit betrug gewöhnlich 20 Stunden. Daneben wurde vergleichsweise heiß extrahiert, indem der Äther mit dem Pflanzenmaterial 2 Stunden am Rückflußkühler mit einem warmen Luftstrom zum Sieden gebracht wurde. Beide Methoden ergaben nur während eines kurzen Zeitraumes im Frühjahr unterschiedliche Ergebnisse (s. S. 103). Nach beendeter Extraktion wurde der Äther durch einen Wattebausch filtriert, das Pflanzenmaterial mit frischem Äther gewaschen, der Spüläther mit dem Extrakt vereinigt und auf dem Wasserbad abgedampft. Der trockene Rückstand wurde mit 4 ccm aqua dest. aufgenommen. Die so erreichte Konzentration des Rohextraktes bezeichnen wir als R 1/1. Auch die weiteren Konzentrationsangaben beziehen sich immer auf das Frischgewicht des extrahierten Materials, z. B.

Rückstand von 4 g extrah. Mat. + 4 ccm H_2O = R 1/1
„ „ 4 g „ „ + 2 ccm „ = R 2/1.

Konzentrationsangaben dieser Art werden in der Arbeit auch bei der neutralen und der sauren Fraktion gemacht, z. B. n 1/1 oder s 2/1.

3. Fraktionierung des Extraktes. Bei der Auftrennung des Rohextraktes wurde mit Abänderungen nach BOYSEN-JENSEN (1941) verfahren. Der Rohextrakt ($\sim p_H$ 6) wurde mit frischer gesättigter Natriumbicarbonatlösung auf p_H 8,4 gebracht (Stuphanpapier, Feinchemie GmbH, Sebnitz). Darauf wurde die neutrale Phase dreimal mit Äther ausgeschüttelt, der Äther abgedampft und mit 1 ccm aqua dest. aufgenommen (n 4/1 Lösung). Diese wäßrige Lösung diente

1. unter Zugabe von 10^{-7} g/ccm IES zum Test der HSe,
2. zum Test der Verdünnungsstufen, bei denen die Konzentration der zugegebenen IES konstant gehalten wurde,
3. nach entsprechender Verdünnung zum Test der neutralen Phase ohne Beigabe von IES (Kontrolle).

Die Ansäuerung erfolgte nicht mit Weinsäure (BOYSEN-JENSEN 1941), weil sich dabei ein HS bilden kann, sondern durch sorgfältige Titration mit 0,5 n HCl nach LARSEN (1955a) bis zu p_H 3. Eine leichte Eigenfärbung des Extraktes erschwerte die Verwendung von Methylorange als Indicator. Es wurde Stuphanpapier benutzt. Danach wurde mit Äther ausgeschüttelt, abgedampft und mit 1 ccm Wasser aufgenommen (s 4/1 Lösung). Bei der Überführung in Agar wurden die Lösungen in kleinen Porzellanschalen gemischt und das Ganze auf Glasplättchen (2,5 × 3 cm) ausgegossen. Die Schichtdicke des Agarplättchens betrug 1,5 mm.

Bei der sauren Fraktion wurde durch Mischung von 0,56 ccm s 4/1 Lösung und 0,56 ccm heißer 3%iger Agarlösung eine Konzentration von s 2/1 im Agarplättchen (1,5%ig) erreicht, die ausschließlich auf WSe geprüft wurde. Beim Test des HS enthielt das Agarplättchen neben der n 1/1 Lösung eine IES-Konzentration von 10^{-7} g/ccm. Durch 24stündiges Aufbewahren der Plättchen in Petrischalen mit feuchtem Filterpapier konnten die WSe und HSe sich gut im ganzen Agar verteilen. Danach wurde der Agar in Blöckchen von 2,5 × 2,5 mm geschnitten und getestet.

4. Durchführung der Abfangversuche. Es wurde die Wentsche Abfangmethode angewendet. Die mit einer Rasierklinge sauber abgeschnittenen Knospen wurden nach dem Abwaschen der Schnittstelle mit aqua dest. invers (SÖDING 1952) in eine große Petrischale mit feuchtem Sand gesteckt. Darauf wurde die Schnittfläche mit einem Tropfen Wasser angefeuchtet und ein Agarplättchen (1,5%ig) von der Größe 5 × 5 × 1,5 mm aufgelegt. Die Abfangzeit betrug 4 Stunden. Die Knospen standen unterdessen in einer feuchten Kammer im Dunkeln bei 18° C. Vergleichsweise wurden Agarplättchen der vierfachen und sechzehnfachen Größe bei gleicher Abfangzeit benutzt, um zu zeigen, daß Überkonzentrationen bei den gewählten Bedingungen nicht auftraten. Es wurde unter Benutzung eines 1,5%igen Agars mit einem Gehalt von 10^{-7} g/ccm IES außerdem versucht, hemmende Stoffe im Diffusat abzufangen und zu testen.

5. Anzucht der Testpflanzen und Ausführung des Testes. Zum Test wurde Hafer der Sorte „Bördeweiß" verwendet. Die angekeimten Körner wurden zu 16 in zwei Reihen in rechteckige Glasschalen (16 × 6 × 4 cm) gepflanzt, die mit gesiebter Gartenerde gefüllt waren. Die Temperatur im Dunkelraum betrug 24° C bei 90% relativer Luftfeuchtigkeit. Nach 50—55 Stunden hatten die Koleoptilen die richtige Länge von ca. 2 cm erreicht und konnten zum Test benutzt werden. Nach der einmaligen Dekapitation wurden die Agarblöckchen sofort in den Winkel zwischen Koleoptilenstumpf und Primärblatt gesetzt. Für jeden Test wurde je eine Reihe aus zwei verschiedenen Schalen verwendet, um eventuelle Unterschiede zwischen ihnen auszugleichen. Nach 2 Stunden und 20 Min. wurden die 12 bis 16 Koleoptilen jeden Testes abgeschnitten und sogleich nach der Methode SÖDING (1952) gemessen. Die Angabe der Krümmungswerte erfolgt in Grad (At°).

6. Der Hemmstoffnachweis. Zum HS-Nachweis in der neutralen Phase benutzten wir, wie schon bemerkt, eine indirekte Methode. Der auf HS zu testende Agarwürfel enthielt gleichzeitig eine Konzentration von 10^{-7} g/ccm IES. Neben diesem Gemisch wurde zur Kontrolle die reine IES-Konzentration jedesmal mitgetestet. Die prozentuale Verminderung der Koleoptilenkrümmung durch die HSe gegenüber der Kontrolle wurde in den Tabellen und Kurven als prozentuale Hemmung ausgedrückt. Die Werte können als Maß für den HS-Gehalt angesehen werden, da niemals ein neutraler WS den Test störte, wie die ständigen Kontrollteste ohne vorgegebene IES zeigten.

7. Auswertung der Versuchsergebnisse. Da es sich meist um jahreszeitlich abhängige Versuche handelte, war eine ganz genaue Wiederholung unter denselben klimatischen Bedingungen während einer Vegetationsperiode nicht möglich. Dieser Mangel wurde durch regelmäßigen Test in kurzen Abständen (3—6 Tage) ausgeglichen. Da Veränderungen in dem WS- und HS-Haushalt der Knospen nicht ganz schlagartig möglich sind, konnten so Fehler ausgeschaltet werden. Während der schnellen Veränderungen im Frühjahr wurden gleichzeitig vergleichbare Knospen zweier verschiedener Standorte getestet, um eine größere Sicherheit der Aussage zu gestatten. Da stets eine Kontrolle von IES mitgetestet wurde, um die prozentuale Hemmung durch den HS festzustellen, wurden die täglichen Schwankungen in der Empfindlichkeit der Koleoptilen (SÖDING 1952) bei den HS-Testen in gewissem Maße ausgeglichen.

Der nach $s_{\bar{x}} = \sqrt[2]{\frac{(x-\bar{x})}{n(n-1)}}$ errechnete mittlere Fehler gibt nur ein Maß für die Variationsbreite der Koleoptilen eines Tages an. Die statistische Sicherung einiger Meßreihen geschah nach PÄTAU (1943).

Einzelne Angaben über die Verwendung von verschiedenen Treibmethoden und die papierchromatographische Arbeitsweise finden sich in den jeweiligen Kapiteln.

C. Versuchsergebnisse

I. Untersuchungen über den Jahresrhythmus im HS- und WS-Gehalt der Fliederknospen

1. Allgemeines. Es wurden regelmäßig getestet:

1. Der HS der neutralen Phase 1/1.

2. Die 1/10 Verdünnungsstufe des HS-Extraktes gegenüber der gleichen Konzentration IES.

3. Eine Kontrolle der neutralen Phase ohne zugegebene IES.

4. Die WSe der sauren Phase 2/1 mit Verdünnungsstufen.

Der Rohextrakt wurde nur in den ersten Monaten regelmäßig getestet. Seine WS-Wirkung war auch im Frühjahr gering, und die Werte schwankten, eine Tatsache, die sich aus dem gleichzeitig anwesenden WS-Antagonisten der neutralen Phase erklärt. Die Winkel ließen so keine klaren Schlüsse zu.

In den Abb. 1—3 sind die wichtigsten Ergebnisse zusammengefaßt. Während des Herbstes blieben alle Testwerte unverändert. Daher wurden die Kurven erst ab Dezember gezeichnet. Die Hemmungswerte der neutralen Phase lagen zwischen 75 und 85%. Die Temperaturkurve mit eingezeichneten Durchschnitts- und Maximaltemperaturen erlaubt es, Zusammenhänge zu erkennen, die zwischen den Veränderungen in den Knospen und den klimatischen Bedingungen bestehen. Leider war der Witterungsverlauf während der Versuchszeit wenig typisch. Einem außerordentlich milden Winter mit nur wenigen Frosttagen Ende Dezember und in den ersten Januartagen folgten schon am 5. Januar sehr warme Tage mit Durchschnittstemperaturen bis zu $+9^0$ C. Nach einigen kühleren Tagen kam es zu einer zweiten starken Erwärmung, die bis Mitte Februar anhielt. Auf diese milde Witterung ist es zurückzuführen, daß bei den Fliederknospen schon am 1. Februar leichtes Wachstum festgestellt werden konnte, das sich in schmalen grünen Streifen zwischen den bräunlichen Knospenschuppen bemerkbar machte. Eine 3 Wochen anhaltende Abkühlung mit Temperaturen um 0^0 C ließ die begonnene Entwicklung aber wieder ins Stocken geraten, und erst Mitte März brachte eine längere starke Erwärmung wieder einen Fortschritt. Durch den recht kühlen April wurde die Entwicklung der jungen Triebe dann nochmals verlangsamt, bis im Mai die Streckung dann endlich zum Abschluß kommen konnte. Sicher wären manche der typischen Veränderungen im WS- und HS-Gehalt der Knospen viel klarer zum Ausdruck

gekommen, wenn nach einem normalen Winter die wärmeren Monate März und April ein stetiges ununterbrochenes Wachstum der Knospen ermöglicht hätten.

Die HS-Wirkung ist in allen Kurven relativ, nämlich in Prozenten der Hemmung der vorgegebenen IES-Konzentration 10^{-7} g/ccm an-

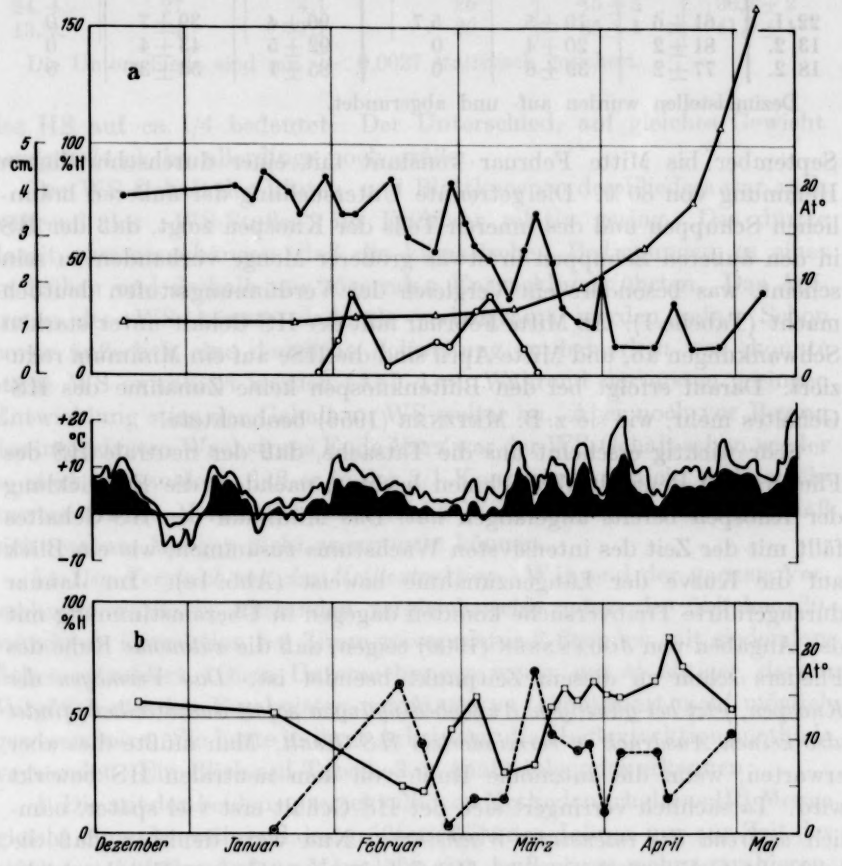


Abb. 1a u. b. Ordinate 1: Länge der Triebe in cm; Ordinate 2: HS-Gehalt, prozentuale Hemmung von 10^{-7} g/ccm IES; Ordinate 3: WS-Gehalt in At°. a *Syringa*, Extrakte von Terminalblütenknospen; △——△ Länge der Triebe; ●——● HS-Gehalt; ○——○ WS-Gehalt. b *Syringa*, Diffusate der Terminalblütenknospen; □——□ abgefangener HS; ⊙----⊙ abgefangener WS. In der Mitte: Temperaturverlauf von Dezember 1956 bis Mai 1957; obere Kurve = Maximaltemperatur; untere Kurve = Durchschnittstemperatur

gegeben, die WS-Wirkung in Graden der Krümmungswinkel (At°). Die Kurve über das Ausmaß der Längenzunahme gibt Auskunft über die Intensität des Wachstums. Eine nicht eingetragene Gewichtskurve lief praktisch parallel.

2. Das Verhalten der terminalen Blütenknospen von *Syringa vulgaris*.

a) Extrakte. Betrachten wir die Kurve des HS-Gehaltes (Abb. 1a) der Blütenknospen. Der Gehalt blieb mit geringen Schwankungen von

Tabelle 1

Datum 1957	Inneres			Äußere Schuppen		
	neutr. Ph. 1/1 % Hemm.	neutr. Ph. 1/10 % Hemm.	saure Ph. 2/1	neutr. Ph. 1/1 % Hemm.	neutr. Ph. 1/10 % Hemm.	saure Ph. 2/1
22. 1.	61 ± 6	19 ± 5	5,7	90 ± 4	39 ± 7	0
13. 2.	81 ± 2	20 ± 4	0	92 ± 5	43 ± 4	0
18. 2.	77 ± 2	39 ± 6	0	85 ± 1	55 ± 3	0

Dezimalstellen wurden auf- und abgerundet.

September bis Mitte Februar konstant mit einer durchschnittlichen Hemmung von 80%. Die getrennte Untersuchung der äußeren bräunlichen Schuppen und des inneren Teils der Knospen zeigt, daß der HS in den äußeren Schuppen in etwas größerer Menge vorhanden zu sein scheint, was besonders ein Vergleich der Verdünnungsstufen deutlich macht (Tabelle 1). Ab Mitte Februar fällt der HS-Gehalt unter starken Schwankungen ab, und Mitte April sind die HSe auf ein Minimum reduziert. Darauf erfolgt bei den Blütenknospen keine Zunahme des HS-Gehaltes mehr, wie sie z. B. METZNER (1956) beobachtete.

Sehr wichtig erscheint uns die Tatsache, daß der neutrale HS des Flieders erst deutlich abzunehmen beginnt, nachdem die Entwicklung der Knospen bereits angefangen hat. Das Minimum des HS-Gehaltes fällt mit der Zeit des intensivsten Wachstums zusammen, wie ein Blick auf die Kurve der Längenzunahme beweist (Abb. 1a). Im Januar durchgeführte Treibversuche konnten dagegen in Übereinstimmung mit den Angaben von JOHANNSEN (1900) zeigen, daß die *autonome* Ruhe des Flieders schon zu diesem Zeitpunkt beendet ist. *Das Vermögen der Knospen, jetzt bei günstigen Außenbedingungen sofort auszutreiben, findet also keinen Ausdruck in vermindertem HS-Gehalt.* Man müßte dies aber erwarten, wenn die autonome Ruhe von dem neutralen HS bewirkt wird. Tatsächlich verringert sich der HS-Gehalt erst viel später, nämlich *während des intensiven Wachstums.* Nun wäre denkbar, daß die beobachtete Verminderung des HS-Gehaltes pro Gramm Frischgewicht während des Wachstums nur auf einer Verteilung der gleichen HS-Menge auf eine jetzt größere Menge Pflanzengewebe beruht. Wir stellten daher auch Versuche an, bei denen der HS-Gehalt anstatt auf das Frischgewicht auf die Knospenzahl bezogen wurde. Diese ließen deutlich erkennen, daß es sich offenbar auch um eine absolute Abnahme handelt (Tabelle 2). 20 Knospen mit einem Gewicht von 4 g ergaben am 13. 2. eine Hemmung von 85%, am 24. 4. ebenfalls 20 Knospen mit einem Gewicht von 27 g aber nur 45%. Ein Vergleich mit den Hemmungswerten zunehmender Verdünnungsstufen (Kurve nicht abgedruckt) zeigte, daß eine Abnahme von 85% auf 45% Hemmung eine wirkliche Abnahme

Tabelle 2

Datum 1957	Gewicht g	Länge cm	Anzahl der Knospen	Neutr. Ph. 1/1 % Hemm.	IES 10^{-7} At°
24. 4.	4	4,1	4	12 ± 5	$36{,}4 \pm 2$
24. 4.	27	4,1	*20*	45 ± 5	$36{,}4 \pm 2$
13. 2.	4	1,1	*20*	85 ± 1	$41{,}0 \pm 1$

Die Unterschiede sind mit $P < 0{,}0027$ statistisch gesichert.

des HS auf ca. 1/4 bedeutet. Der Unterschied, auf gleiches Gewicht bezogen (4 g), ist allerdings noch größer.

Der WS-Gehalt der Blüten- und Blattknospen des Flieders war auch während des „WS-Stoßes" im Frühjahr relativ gering. Das dürfte damit zusammenhängen, daß die klimatischen Bedingungen zu einer zu frühen und deshalb nur zögernden Entwicklung führten. Das Auftreten des WS könnte dadurch verlangsamt worden sein. Schon bevor äußerlich eine deutliche Schwellung zu bemerken war, konnte etwas WS extrahiert werden (Abb. 1a). Während der ersten geringen Entwicklung stieg der Gehalt an WS weiter an. Aber noch vor Beginn des intensivsten Wachstums Ende März war der WS-Gehalt schon wieder so stark abgesunken, daß er in der 2/1-Konzentration nicht mehr nachzuweisen war. Vermutlich werden die WSe so schnell abgeleitet, daß sich testbare Mengen nicht ansammeln können.

b) Der Vergleich mit der Heißextraktion. Während der ganzen Versuchszeit wurde in Abständen vergleichsweise neben der üblichen 20-stündigen Extraktion bei Zimmertemperatur 2 Stunden mit siedendem Äther extrahiert. Diese Untersuchungen waren um so nötiger, da ein Vergleich mit den Ergebnissen von Metzner (1956) sonst nicht möglich gewesen wäre. Sie hatte in ihrer Arbeit nur die Heißextraktionsmethode verwendet. Ein Blick auf Tabelle 3 u. 4 läßt folgendes erkennen:

1. Die mit den beiden unterschiedlichen Methoden erhaltene HS-Menge gleicht einander während des größten Teils des Jahres, nur zur Zeit des stärksten Abfalles Anfang März läßt sich heiß etwas mehr extrahieren.

2. Beim Vergleich der Verdünnungsstufe der neutralen Phase (1/10) wiederholt sich das gleiche Bild (Werte sind nicht in der Tabelle enthalten).

3. Während im Herbst mit beiden Methoden keine WSe erhalten wurden, änderte sich das Bild Ende Januar schlagartig (Tabelle 4). Die zweistündige Erhitzung machte recht große WS-Mengen frei, obwohl die übliche Kaltextraktion weiterhin im Test keine WSe ergab. Es konnte innerhalb von 10 Tagen dreimal prinzipiell das gleiche Ergebnis erhalten werden. Als Anfang Februar durch die Kaltextraktion ebenfalls WSe gefunden wurden, brachte die Heißextraktion auch keine

Tabelle 3. *Vergleich der Heißextraktion mit der Kaltextraktion*

Datum 1956/57	Neutr. Ph. 1/1 Hemm. %	Saure Ph. 2/1 At°	Saure Ph. 1/1 At°	IES 10^{-7} At°
27.10.	85 ± 1	0	0	37 ± 1,4
H[1] 27.10.	79 ± 5	0	0	37 ± 1,4
7.10.	83 ± 2	0	0	53 ± 1,8
H 7.10.	88 ± 2	0	0	53 ± 1,8
		Siehe Tabelle 4		
26.2.	81 ± 2	4,5 ± 1	3,5 ± 0,8	37,6 ± 1,3
H 26.2.	82 ± 2	7,3 ± 1,8	0	37,6 ± 1,3
1.3.	67 ± 2	0	0	36,6 ± 1,6
H 1.3.	77 ± 2	0	0	36,6 ± 1,6
4.3.	56 ± 3	6,8 ± 1,4	4,9 ± 0,8	45 ± 2
H 4.3.	70 ± 2	6,0 ± 0,6	4,1 ± 0,6	45 ± 2
14.3.	55 ± 3	2,8 ± 1	1,9 ± 0,6	40 ± 1,7
H 14.3.	32 ± 5	3,3 ± 1	2,2 ± 0,7	40 ± 1,7
23.4.	11 ± 6	0	0	36,4 ± 2
H 23.4.	12 ± 5	0	0	36,4 ± 2

[1] H = Heißextraktion.

Tabelle 4. *Vergleich der Heißextraktion mit der Kaltextraktion*

Datum 1957	Neutr. Ph. 1/1 Hemm. %	Saure Ph. 2/1 At°	Saure Ph. 1/1 At°	IES 10^{-7} At°
22. 1.	78 ± 2	0	0	34,5 ± 1,6
H 22. 1.	90 ± 2	19,3 ± 2,1	19,2 ± 1,8	34,5 ± 1,6
30. 1.	86 ± 1	0	0	38,0 ± 1,7
H 30. 1.	86 ± 1	24,0 ± 1,4	18,0 ± 1,4	38,0 ± 1,7
2. 2.	70 ± 3	3,8 ± 1	0	31,0 ± 2
H 2. 2.	81 ± 2	27,0 ± 1,6	24,0 ± 1,6	31,0 ± 2

höheren Werte mehr (Tabelle 3). Ohne Zweifel steht diese Erscheinung im engen Zusammenhang mit der außergewöhnlich hohen Erwärmung Anfang Januar, welche groß genug war, die Knospen in Treibstimmung zu versetzen. Diese deutliche Spitze im WS-Gehalt trat schon 1 bis 2 Wochen vor dem ersten sichtbaren Knospenwachstum auf und ist als erstes Anzeichen einer beginnenden Knospenaktivität zu werten. Da später mit der Heißextraktion nicht mehr WS als mit der Kaltextraktion erhalten wurde, dürfte folgende Erklärung zutreffen. Durch die günstige Witterung ist in den Knospen die Mobilisierung von WS erfolgt, der indessen zunächst nicht frei, sondern in einer Bindung, vielleicht an Eiweiß, vorliegt. Da der Ätherextrakt durch den Zusatz eines Tropfens 10%iger Essigsäure pro Gramm Frischgewicht leicht sauer war, kommt es beim Sieden im feuchten Äther zu einer Hydrolyse, welche ausreicht, diese inaktive Vorstufe in WS zu verwandeln.

c) Die Kontrolle. Zur Kontrolle der laufenden Teste wurden die Blütenknospen eines zweiten Standortes in gleicher Weise untersucht. Die Fliedersträucher des Standortes 2 wuchsen unter ungünstigeren Bedingungen und hatten kleinere Knospen. Ein Vergleich zeigt, daß der jahreszeitliche Verlauf des HS-Gehaltes weitgehend mit den Ergebnissen des Hauptversuches übereinstimmt (Abb. 2a). Der WS-Gehalt ist allerdings etwas geringer (Abb. 2b).

d) Die Abfangmethode. Während die Extraktionsmethode die jeweils in einem Organ vorhandene WS-Menge erfaßt, läßt die Abfangmethode nur erkennen, welche WS-Mengen in einer bestimmten Zeit abwandern. Es waren also von vornherein bei Verwendung von beiderlei Methoden

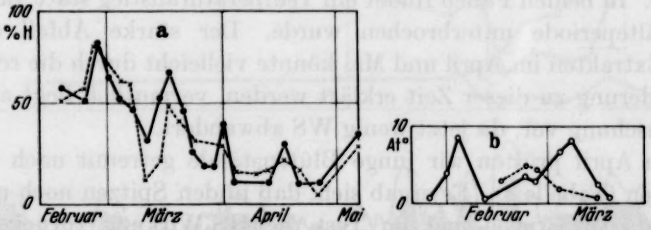


Abb. 2a u. b. *Syringa*, Terminalblütenknospen, Vergleich der Standorte 1 u. 2. a HS-Gehalte; ●——● Standort 1 (Hauptversuch); ×----× Standort 2. b WS-Gehalte; o——o Standort 1; o----o Standort 2

erhebliche Unterschiede zu erwarten, wie dies vor kurzem extrem von v. Guttenberg und Zetsche (1956) nachgewiesen und auch erklärt wurde. Es war zu vermuten, daß dies auch für HSe gilt. Daß solche während der ganzen Versuchszeit abwanderten, ist aus Abb. 1b klar zu entnehmen. Für die Deutung der Versuche ergibt sich nun eine nicht auszuschaltende Schwierigkeit. Die HS-Menge wurde wieder dadurch geprüft, daß ein 1,5%iger Abfangagar verwendet wurde, der einen beigegebenen IES-Gehalt von 10^{-7} g/ccm enthielt. In diesen strömt nun gleichzeitig mehr oder weniger WS aus der Knospe ein, ohne daß die Möglichkeit besteht, dessen Menge festzustellen. Wenn also eine starke Hemmung der Wirkung der zugegebenen IES erfolgt, so dürfte dies wohl hauptsächlich auf reichlicher HS-Abgabe beruhen, doch kann auch geringer WS-Austritt daran Schuld sein. Umgekehrt kann beobachtete schwache Hemmung einerseits auf geringer HS-Abgabe, andererseits auf starker WS-Vermehrung beruhen. Die gleichen Schwierigkeiten ergeben sich entsprechend für die WS-Bestimmung. Die Beurteilung der Ergebnisse kann also nur mit großer Vorsicht und keinesfalls ganz sicher erfolgen.

Das Gegeneinanderwirken von HS und zusätzlichem WS wird in Abb. 1b deutlich erkennbar, denn den WS-Spitzen Mitte Februar und Mitte März entsprechen die Tiefpunkte im HS. Auch anschließend entspricht dem nachweislichen starken WS-Abfall ein deutlicher Anstieg

Tabelle 5. *Vergleich der Wuchsstoffabgabe der Spitzen und der basalen Teile des Blütenstandes*

Datum 1957	Pflanzenteil	Länge cm	Agar + IES % Hemmung	Abgef. W.S. At°	IES 10^{-7} At°
14. 4.	Gesamtblütenstand	3,2	87 ± 2	3,9 ± 0,7	43,5 ± 1,4
14. 4.	obere Spitzen	1,0	48 ± 9	9,0 ± 0,8	43,5 ± 1,4
17. 4.	Gesamtblütenstand	3,3	74 ± 1	3,0 ± 1	23,5 ± 1,6
17. 4.	obere Spitzen	1,0	19 ± 6	9,8 ± 1,1	23,5 ± 1,6
17. 4.	basaler Teil	2,3	66 ± 3	3,3 ± 0,8	23,5 ± 1,6

der HS-Kurve. Als gesichert kann wohl gelten, daß Mitte Februar und Mitte März der reichlich produzierte WS auch in größerer Menge abwandert. In beiden Fällen findet ein Temperaturanstieg statt, der durch eine Kälteperiode unterbrochen wurde. Der starke Abfall des HS in den Extrakten im April und Mai könnte vielleicht durch die reichliche Auswanderung zu dieser Zeit erklärt werden, vermutlich liegt aber nur eine Täuschung vor, da jetzt wenig WS abwandert.

Mitte April prüften wir junge Blütenstände getrennt nach Spitzen und Basen (Tabelle 5). Es ergab sich, daß in den Spitzen noch reichlich WS produziert wurde und im Test die HS-Wirkung zurückdrängte. In den Basen machte sich der HS viel stärker bemerkbar, und er ergab für den ganzen Blütenstand den Ausschlag.

3. Die Fliederterminalblattknospen. Die Untersuchung der Terminalblattknospen beschränkte sich wegen Materialmangels auf den Herbst und das Frühjahr. Während des Herbstes bestand mit 80% Hemmung kein Unterschied zu den Blütenknospen. Auch bei den Blattknospen nimmt der auf das Frischgewicht bezogene HS-Gehalt erst zu Beginn der Entwicklung ab (Abb. 3a). Er erreicht sein Minimum zu Beginn der stärksten Verlängerung der jungen Triebe. Nachdem diese Ende April

Tabelle 6. *Vergleich der Blätter mit ihren Achsen bei 10—15 cm langen Fliedertrieben*

Datum 1957	Pflanzenteil	Neutr. Ph. 1/1 % Hemm.	Saure Ph. 2/1 At°	IES 10^{-7} At°
26. 4.	ges. Trieb	45 ± 3	6,8 ± 0,6	31,0 ± 1,8
6. 5.	ges. Trieb	60 ± 5	3,0 ± 0,7	32,4 ± 1,4
6. 5.	Achsen	8 ± 5	23,6 ± 1,2	32,4 ± 1,4
6. 5.	Blätter	85 ± 1	0	32,4 ± 1,4
9. 5.	Achsen	0 ± 4	23,0 ± 1,5	39,6 ± 1,4
9. 5.	Blätter	55 ± 3	0	39,6 ± 1,4
27. 6.	Achsen	32 ± 4	10,6 ± 0,8	40,5 ± 2
27. 6.	Blätter	51 ± 3	0	40,5 ± 2

die Länge von ungefähr 4 cm überschritten haben, nimmt der HS-Gehalt im Gegensatz zum Verhalten der Blütenknospen wieder deutlich zu. Die ungefähr 10 cm langen Triebe erreichen Anfang Mai schon wieder 60% Hemmung der vorgegebenen IES. Eine getrennte Extraktion der

fast erwachsenen Blätter und ihrer jungen Achsen gab Aufschluß darüber, daß nur in den Blättern der HS beträchtlich zugenommen hatte, während der HS-Gehalt der Achsen sehr gering war (Tabelle 6). Umgekehrt enthielten diese reichlich WS, die Blätter keinen. Im Gegensatz zu den Blütenknospen war es fast 2 Monate länger möglich, WSe zu

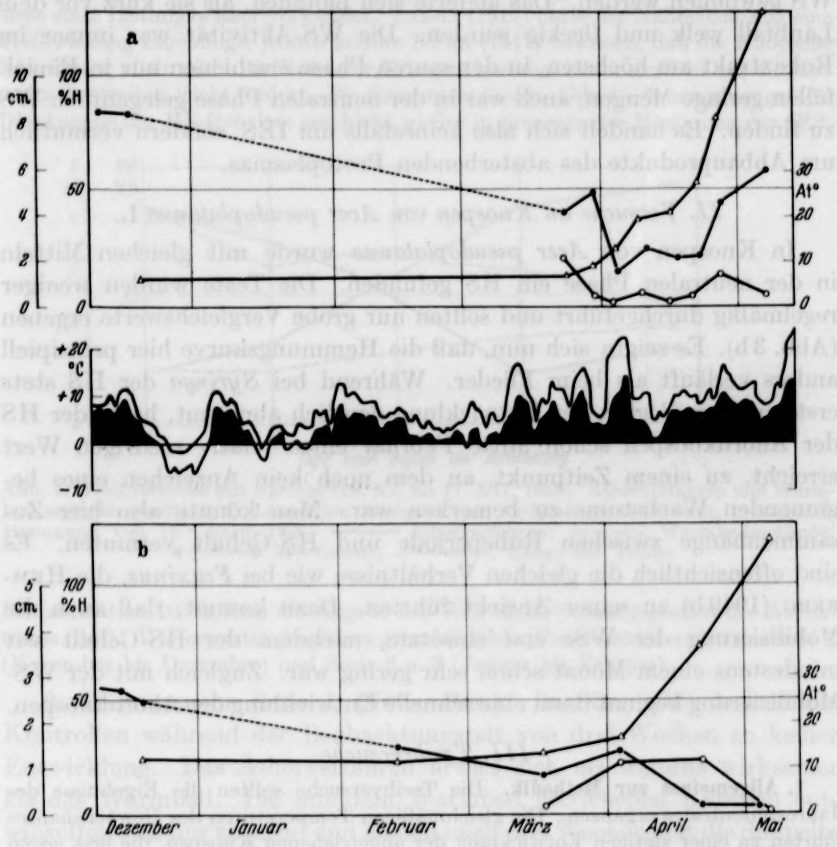


Abb. 3a u. b. Ordinaten wie in Abb. 1. a *Syringa*, Extrakte der Terminalblattknospen. △——△ Länge der Triebe; ●——● HS-Gehalt; o——o WS-Gehalt. b *Acer pseudoplatanus*, Extrakte der Terminalknospen, Bezeichnung wie unter a

extrahieren. Zweifellos ist das auf die sich entwickelnden jungen Blätter zurückzuführen, denn diese machen die Hauptmasse der Knospe aus. Später aber enthalten, wie schon erwähnt, vor allem die sich streckenden jungen Achsen reichlich WSe (Tabelle 6). Der genaue Beginn der WS-Produktion in den Blattknospen konnte nicht erfaßt werden (Abb. 3a), dürfte aber ähnlich liegen wie bei den Blütenknospen.

4. Das Verhalten der Blätter. Schon im vorangegangenen Kapitel wurde erwähnt, daß der HS sich in den Blättern mit zunehmender Größe und zunehmendem Alter vermehrt und schon im Mai einen hohen Wert

erreicht. Im Herbst beträgt die Hemmung der IES durch die Blätterextrakte 60—80%. Bis zum Laubfall bleibt der HS-Gehalt im wesentlichen unverändert. Dieser hohe HS-Gehalt wurde schon von Linser (1940) hervorgehoben. Solange die Blätter, sowohl beim Flieder als auch beim Ahorn, voll lebenstüchtig waren, konnte aus ihnen keinerlei WS gewonnen werden. Das änderte sich plötzlich, als sie kurz vor dem Laubfall welk und fleckig wurden. Die WS-Aktivität war immer im Rohextrakt am höchsten, in der sauren Phase erschienen nur in Einzelfällen geringe Mengen, auch war in der neutralen Phase gelegentlich WS zu finden. Es handelt sich also keinesfalls um IES, sondern vermutlich um Abbauprodukte des absterbenden Protoplasmas.

II. Versuche an Knospen von Acer pseudoplatanus L.

In Knospen von *Acer pseudoplatanus* wurde mit gleichen Mitteln in der neutralen Phase ein HS gefunden. Die Teste wurden weniger regelmäßig durchgeführt und sollten nur grobe Vergleichswerte ergeben (Abb. 3b). Es zeigte sich nun, daß die Hemmungskurve hier prinzipiell anders verläuft als beim Flieder. Während bei *Syringa* der HS stets erst mit dem Beginn der Entwicklung deutlich abnimmt, hatte der HS der Ahornknospen schon Mitte Februar einen relativ niedrigen Wert erreicht, zu einem Zeitpunkt, an dem noch kein Anzeichen eines beginnenden Wachstums zu bemerken war. Man könnte also hier Zusammenhänge zwischen Ruheperiode und HS-Gehalt vermuten. Es sind offensichtlich die gleichen Verhältnisse wie bei *Fraxinus*, die Hemberg (1949b) zu seiner Ansicht führten. Dazu kommt, daß auch die Mobilisierung der WSe erst einsetzte, nachdem der HS-Gehalt seit mindestens einem Monat schon sehr gering war. Zugleich mit der WS-Mobilisierung beginnt dann eine schnelle Entwicklung der Ahornknospen.

III. Treibversuche

1. Allgemeines zur Methodik. Die Treibversuche sollten die Ergebnisse des Jahreszeitentestes ergänzen. Die gleichmäßigen Temperaturen des Gewächshauses führten zu einer stetigen Entwicklung der angetriebenen Knospen, die erst gegen Ende jeder Versuchsserie langsamer wurde. Nahrungsmangel führte dann schnell zum Absterben, da die kleinen Blättchen der Blütenstände nicht genügend assimilieren konnten. Als Versuchsmaterial dienten 20—25 cm lange Zweige von *Syringa vulgaris* mit Terminalblütenknospen. Sie wurden im Freien geschnitten und sofort ins Wasser gestellt. Zum Treiben benutzten wir zwei verschiedene Methoden:

1. Das Ätherverfahren (Johannsen 1900).
2. Das Warmbad (Molisch 1909).

Zu 1. Die im Wasser stehenden Zweige wurden unter eine fest abschließende Glasglocke gebracht, die auf 10 l Luftraum 4 g verdampften Äther enthielt. Nach 24 Stunden wurden die Zweige herausgenommen, in frisches Wasser gestellt und zum Treiben in ein Gewächshaus mit 18—20° C gebracht.

Zu 2. Die Knospen der abgeschnittenen Zweige wurden in ein Glas mit Leitungswasser getaucht und 10 Stunden lang einer Temperatur von 33° C ausgesetzt. Die frei herausragenden Schnittflächen wurden mit feuchter Watte bedeckt.

Nach der Behandlung wurden die basalen Enden frisch abgeschnitten und die Zweige ebenfalls ins Gewächshaus gebracht. Das Wasser in den Gefäßen mußte wegen der schnellen Verpilzung oft erneuert werden. Als Kontrolle dienten unbehandelte Zweige, die zu Beginn jeder Versuchsserie ins Gewächshaus gestellt wurden.

Die Versuche wurden in drei Serien von November bis Februar durchgeführt. Nachdem Vergleiche im November gezeigt hatten, daß die Zweige sich ein wenig schneller entwickeln, wenn sie in Knopscher Nährlösung stehen, wurde bei Serie 3 diese statt Leitungswasser verwendet. LAKON (1912) hatte der Nährsalzlösung eine Treibwirkung zugebilligt, jedoch konnte KÜHN (1917) beweisen, daß die Knopsche Nährlösung allein nicht die Ruhe der Knospen beenden kann, sondern nur ein normales Austreiben leicht fördert. Die Ergebnisse sind in Abb. 4—6 zusammengefaßt. Die Angabe des HS-Gehaltes geschieht wieder in prozentualer Hemmung der IES-

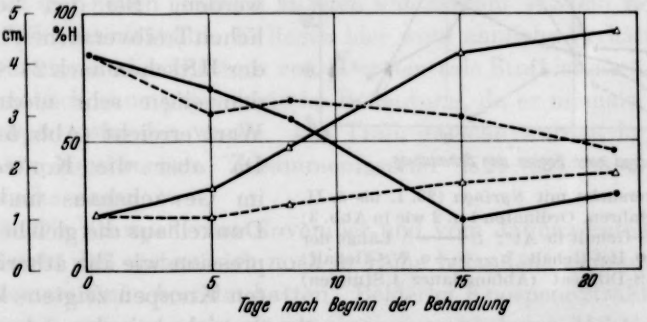


Abb. 4. Treibversuche mit *Syringa* (26. XI. bis 17. XII. 1956). Ätherverfahren und Warmbadmethode. Ordinate 1: Länge der Triebe in cm; Ordinate 2: HS-Gehalt, prozentuale Hemmung von 10^{-7} g/ccm IES. ——— Ätherverfahren; – – – – Warmbadmethode; ●– – –● HS-Gehalt; △———△ Länge der Triebe

Konzentration 10^{-7} g/ccm, die Angabe der WSe in Krümmungsgraden des Avenatestes (At^0). Wie erwartet, bestehen grundsätzliche Unterschiede zwischen Serie 1 (November bis Dezember) und Serie 2 u. 3 (Januar bis Februar).

2. Treibversuche Serie 1 (Nov.—Dez.). Im November kamen die Kontrollen während der Beobachtungszeit von drei Wochen zu keiner Entwicklung. Das Ätherverfahren erwies sich als weitaus wirksamer als das Warmbad. Die mit dem Warmbad getriebenen Knospen entwickelten sich nur zögernd und hatten nach drei Wochen erst die doppelte Länge erreicht. Dementsprechend nimmt auch der HS-Gehalt nur langsam ab und hemmt nach drei Wochen die IES noch zu 50% (Abb. 4). Einer schnelleren Entwicklung der mit Äther getriebenen Knospen entspricht im Versuch eine schnellere Abnahme des HS-Gehaltes.

Obwohl die mit Äther getriebenen Knospen sich ungefähr so schnell entwickelten wie in den Versuchen im Januar und Februar, konnte weder WS extrahiert noch abgefangen werden.

3. Treibversuche Serie 2 u. 3 (Jan.—Febr.). Die Kontrollen wuchsen jetzt ebenso schnell wie die mit Äther getriebenen Knospen. Die HS- und WS-Verhältnisse ähnelten sich so sehr, daß auf eine getrennte Darstellung der Kurven verzichtet werden konnte. Offenbar hatten die wenigen kalten Tage des Dezember genügt, die autonome Ruhe der

Knospen zu beenden. Auch CHANDLER u. a. (1937) erwähnen das geringe Kältebedürfnis des Flieders. Der Verlauf des HS-Gehaltes zeigt in beiden Serien und bei der Kontrolle prinzipiell die gleiche Kurve, zuerst eine plötzliche Abnahme, dann wieder ein starkes Ansteigen des HS-Gehaltes, bis es schließlich zu einem gleichmäßigen, weitgehenden Schwund kommt (Abb. 5—6). Auch bei den Freilandversuchen konnte der starke Abfall zu Beginn des Treibens, Anfang März, beobachtet werden. Bei den künstlichen Treibversuchen hatte der HS schon nach 24 Stunden einen sehr niedrigen Wert erreicht (Abb. 5—6). Da aber die Kontrollen im Gewächshaus und im Dunkelhaus die gleiche Depression wie die ätherisierten Knospen zeigten, kann es sich bei der schnellen Verminderung des HS-Gehaltes nicht um eine spezifische Wirkung des Äthers handeln. WSe konnten bei beiden Versuchsserien im Januar und Februar gefunden werden. Es ließen sich mehr WSe extrahieren als beim natürlichen Treiben. Auch hier lag das Maximum etwa eine Woche nach dem Treibbeginn. Ferner konnte man mit der Extraktionsmethode noch reichlich WS finden, wenn die Abfangmethode keine Ergebnisse mehr brachte, also umgekehrt wie beim natürlichen Treiben. Das könnte folgenden Grund haben: Wie v. GUTTENBERG und ZETSCHE (1956) zeigen konnten, sind für den Transport der Auxine Kohlenhydrate als Atmungsmaterial nötig. In unseren Treibversuchen mit abgeschnittenen Trieben mußten die Blütenknospen während des schnellen Wachstums sehr rasch an Kohlenhydraten verarmen, denn die geringe Assimilation der wenigen kleinen Blättchen am Blütenstand konnte nur unzureichend Kohlenhydrate produzieren. So mußte die WS-Abgabe bald ganz aufhören, obwohl die jungen Blütenstände sehr reichlich WS enthielten,

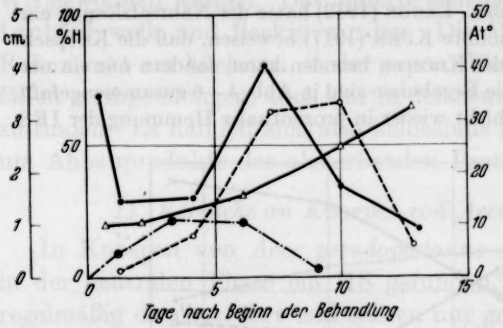


Abb. 5. Treibversuche mit *Syringa* (23. I. bis 5. II. 1957), Ätherverfahren. Ordinaten 1 u. 2 wie in Abb. 3; Ordinate 3: WS-Gehalt in At°; △——△ Länge der Triebe; ●——● HS-Gehalt; o·····o WS-Gehalt; ⊙—·—·—⊙ WS-Diffusat (Abfangdauer 4 Stunden)

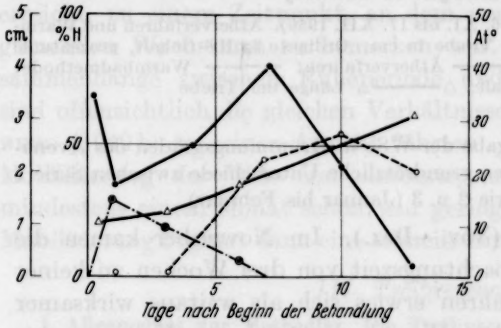


Abb. 6. Treibversuche mit *Syringa* (23. I. bis 5. II. 1957). Zweige ohne vorherige Behandlung im Dunkeln bei 24° C zum Treiben gebracht. Bezeichnungen wie in Abb. 5

weit mehr, als bei der natürlichen Entwicklung im Frühjahr. Besonders klar zeigte erwartungsgemäß diese Verhältnisse die Dunkelkontrolle, da bei ihr gar keine Assimilation möglich war (Abb. 6). Während hier schon nach 6 Tagen der diffusible WS fast auf Null gefallen war, stieg gleichzeitig der WS-Gehalt stark an. Bei den am Strauch treibenden Blütenknospen kann diese Verarmung an Kohlenhydraten nicht eintreten, da ihnen durch den Stamm größere Reserven zur Verfügung stehen und die jungen Blattsprosse sie bald ernähren können. Die WS-Ableitung kann ungestört erfolgen, und es kommt zu keiner Anhäufung in dem jungen Pflanzengewebe. Nach 14 Tagen begannen die Knospen abzusterben. Dabei trat neben geringen Mengen von saurem WS ein neutraler Stoff mit WS-Aktivität auf. Es liegen hier wohl ähnliche Verhältnisse wie bei den absterbenden Blättern vor. Der neutrale Stoff ist als Abbauprodukt vermutlich ohne physiologische Bedeutung, da er niemals bei gesunden Knospen gefunden wurde. Die Treibversuche wurden in diesem Zeitpunkt abgebrochen. Zusammenfassend läßt sich über die Treibversuche sagen:

1. Die Knospen vom November und vom Januar unterscheiden sich dadurch, daß erstere sich noch in Ruhe befanden, während letztere die autonome Ruhe beendet hatten. Beiderlei Knospenextrakte unterschieden sich anfangs nicht durch einen verschiedenen HS-Gehalt. Dieser nimmt in beiden Fällen erst langsam während der weiteren Streckung der Knospen ab.

2. Trotz eines noch relativ hohen HS-Gehaltes erreichen Gehalt und Abgabe des WS einen hohen Wert. Es ist also in unserem Falle nicht so, daß sich der HS-Gehalt vermindert, bevor der WS zunimmt, sondern beide Prozesse gehen ungefähr gleichzeitig nebeneinander vor sich.

3. Es ist überraschend, daß im November bei den angetriebenen Knospen trotz guter Entwicklung keine WSe getestet werden konnten. Das Ergebnis steht in Übereinstimmung mit v. Guttenberg und Lehle-Joerges (1948). Man könnte vermuten, daß der WS gerade ausreichte, um die beobachtete Streckung zu ermöglichen, aber nicht in der Menge auftrat, die für den Test erforderlich war.

IV. Papierchromatographische Versuche

1. Allgemeines zur Methodik. Wir benutzten die aufsteigende Methode und verwendeten dazu 40 cm hohe Standzylinder. Als Lösungsmittel benutzten wir eine Mischung von Isopropanol, Ammoniak und Wasser im Verhältnis 10:1:1, die sich bei WSen stets am besten bewährt hat (Linskens 1955). Der Ätherextrakt von 40—50 g Pflanzenmaterial wurde filtriert, in eine neutrale und eine saure Phase getrennt und aus diesen wieder mit Äther ausgeschüttelt. Die Ätherlösungen wurden am Grunde eines Streifens Chromatographiepapier (38 × 3,5 cm, Schleicher & Schüll 2043b) aufgetragen. Stets lief in demselben Zylinder ein Kontrollstreifen mit 10—15 γ IES. Dies war nötig, weil durch unvermeidliche Schwankungen im NH_3-Gehalt leicht Verschiebungen der R_f-Werte verursacht werden. Nach dem Trocknen wurde ein Streifen von 1 cm Breite abgeschnitten und mit

Perchlorsäure-Eisenchlorid-Reagens ($HClO_4$, $FeCl_3$) besprüht. Den Reststreifen von 2,5 cm Breite gebrauchten wir für den Biotest. Er wurde in 10 Stücke geschnitten, welche die R_f-Bereiche 0—0,1; 0,1—0,2 usw. bis 0,9—1,0 umfaßten. Auf passenden Objektträgerstückchen wurden mit 1,5%igem Agar Plättchen gegossen, die Papierstreifen daraufgelegt und dann in einer feuchten Kammer 20 Stunden im Dunkeln aufbewahrt, damit die Stoffe sich im Agar verteilen konnten.

2. Ergebnisse. Leider gelang es in keinem Falle, die beobachteten HSe auf papierchromatographischem Wege zu erfassen. Auch bei relativ großen Pflanzenmengen konnten nie hemmende Zonen auf dem Papierstreifen nachgewiesen werden. Ein Färbungsnachweis der WSe gelang ebenfalls nicht, obwohl Ende März im Biotest zwei verschiedene WSe zu erkennen waren. Die beiden Zonen lagen, gut abgegrenzt, um R_f 0,4 und R_f 0,7. Die Konzentration auf dem Papierstreifen war also zu gering, um noch eine Anfärbung mit dem Perchlorsäure-Eisenchlorid-Reagens zuzulassen. Vergleiche mit der unter gleichen Bedingungen gelaufenen IES-Kontrolle machen es sehr wahrscheinlich, daß es sich in der einen Zone (R_f 0,4) um IES handelt, da die Versuche ziemlich gut mit dem in der Literatur für IES angegebenen R_f-Wert = 0,37 übereinstimmen (Abb. 7a u. b). Die IES-Kontrollen lagen hier bei R_f=0,32 und 0,38. Diese Versuche geben einen weiteren Beweis dafür, daß die WSe der Fliederknospen wirklich in sehr geringer Menge vorhanden sind. Eine Überkonzentration kommt nicht als Ursache der niedrigen Werte in Frage, da 5—10 g Pflanzenmaterial im Biotest geringere oder keine Winkel lieferte. Als höchsten Wert erhielten wir am 26. III. Krümmungswinkel von $\sim 18^0$, das entspricht einer Konzentration im Agarplättchen von ungefähr 5×10^{-8} g/ccm, Nimmt man an, daß die Hälfte der WSe im Papier bleibt, kann man mit rund 10^{-7} g je ccm in diesem rechnen. Da sich diese WSe aber ursprünglich auf 50 g Pflanzengewebe verteilten, kommt man in den Knospen vom 26. III. auf eine Konzentration von ca. 2×10^{-9} g/ccm. Das ist eine Menge, die im gewöhnlichen Test in zweifacher Konzentration (2/1) nicht mehr zu erfassen ist, wie aus dem Jahreszeitentest auch zu entnehmen ist. Der zweite WS mit einem R_f-Wert um 0,7 war in noch geringerer Menge vorhanden.

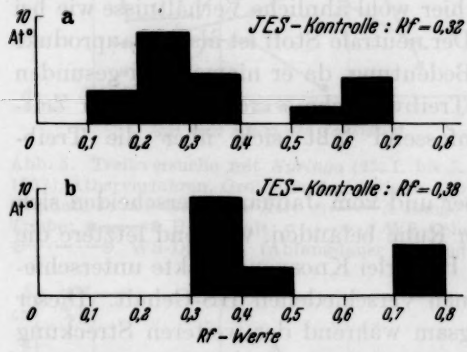


Abb. 7 a u. b. *Syringa*, Biotest der papierchromatographisch getrennten WSe der sauren Phase. a 1. IV. 1957, 50 g Knospen. b 16. IV. 1957, 50 g Knospen

V. Gerbstoffuntersuchungen

Czaja (1939) fand bei seinen WS-Untersuchungen an Holzpflanzen im Avenatest positive Winkel. Er führte sie auf hohe Gerbstoffkonzentrationen einiger Gewebestücke zurück. Es ist bekannt, daß Baumknospen reichlich Gerbstoffe enthalten können. Aus alten Arbeiten von Kraus (1882 u. 1884) und Westermaier (1885 u. 1887) geht außerdem hervor, daß der Gerbstoffgehalt in Knospen und Blättern jahreszeitlichen Schwankungen unterliegt. Es mußte infolgedessen geprüft werden, ob es sich bei den in der angegebenen Weise getesteten HSen um Gerbstoffe handeln kann. Obwohl solche gar nicht oder nur wenig in Äther löslich sind, schien der Rohextrakt doch welche zu enthalten, denn beim Stehen an der Luft wurde er langsam braun. Dieser Prozeß konnte durch die Zugabe von Erdalkalihydroxyden ($Ca(OH)_2$ u. $Ba(OH)_2$) stark beschleunigt werden. Für den Gerbstoffnachweis im Rohextrakt und der neutralen und sauren Fraktion benutzten wir die von Schmidt (1955) angegebenen Methoden. Wir prüften folgende Lösungen: Den Rohextrakt 1/1, die neutrale Phase 1/1 und die saure Phase 1/1. Dabei zeigte sich:

1. Der Rohextrakt enthält wahrscheinlich Gerbstoffe.

a) Bei Zugabe von 3 Tropfen 1%iger Eisenalaun-Lösung ($Fe(NH_4)(SO_4)_2$) zu 1 ccm Lösung gibt diese eine grüne Färbung. Bei Zusatz von einigen Kristallen Natriumacetat entsteht ein Farbumschlag zu Violett (charakteristisch für Catechine).

b) Erdalkalihydroxyde führen in kurzer Zeit zu intensiver Braunfärbung.

c) Fällungen der Gerbstoffe mit Gelatinelösungen oder mit dem empfindlichen Hexamethylentetramin-Reagens unter Zusatz von bestimmten Metallsalzen gelangen allerdings nicht, obwohl bei Gerbstoffkonzentrationen von 10^{-5} g/ccm noch sofortige Fällung eintreten soll.

2. Ein Vergleich der Färbungen der wäßrigen Lösungen der neutralen und sauren Phase zeigt, daß die Gerbstoffe beim fraktionierten Ausschütteln mit Äther fast ausschließlich in die saure Phase übergehen, während in der wäßrigen neutralen Phase nur Spuren nachzuweisen sind. (Von Gerbstoffen mußte man das erwarten, da sie, soweit bekannt, reich an phenolischen Hydroxylgruppen sind.)

Zusammenfassend läßt sich sagen:

1. Handelt es sich bei den angezeigten Stoffen um Gerbstoffe, dann ist ihre Konzentration im Ätherextrakt geringer als 10^{-5} g/ccm.

2. Sie gehen vollständig in die saure Phase über. Die Hemmung durch die neutrale Phase kann also nicht durch Gerbstoffe verursacht sein. Überdies zeigten Versuche mit Wasserextrakten der Knospengerbstoffe, daß diese erst in hohen Konzentrationen gegenüber IES 10^{-7} g/ccm eine hemmende Wirkung haben.

D. Diskussion

Das wichtigste unserer Ergebnisse ist wohl die Tatsache, daß der HS der Fliederknospen in keiner direkten Beziehung zur Beendigung der autonomen Ruheperiode steht. Im Gegensatz dazu stehen allerdings die Verhältnisse bei *Acer pseudoplatanus*, denn hier beginnt die Knospenentwicklung erst, nachdem der HS-Gehalt auf einen geringen Wert abgesunken ist. Der hohe HS-Gehalt der Fliederknospen noch nach dem Abklingen der autonomen Ruhe beweist aber, daß seine Abnahme keine notwendige Voraussetzung für den Beginn des Wachstums zu sein scheint. Die autonome Ruhe der Knospen der Holzgewächse ist in diesen selbst lokalisiert. Es gelingt infolgedessen, durch getrennte Behandlung einzelne Zweige, sogar einzelne Knospen, zur Entwicklung zu bringen, während die Nachbarknospen in Ruhe verbleiben (Molisch 1909, Denny and Stanton 1928). Eine Beobachtung Södings (1939) zeigt, daß die Knospen ihren arteigenen Rhythmus auch beibehalten, wenn sie auf anders reagierende Unterlagen gepfropft werden. Die Annahme, daß die autonome Ruhe durch Wachstumsregulatoren gesteuert wird, läßt zwei prinzipielle Erklärungsmöglichkeiten zu:

1. Die Ruhe wird durch eine relativ hohe hemmende WS-Konzentration ausgelöst (Eggert 1953). Schon Skoog (1939) hatte die Möglichkeit einer direkten Wirkung untersucht. Herausgeschnittene Lateralknospen von *Pisum*, in Nährlösung kultiviert, wurden durch höhere WS-Konzentrationen ab 3×10^{-6} g/ccm direkt gehemmt. Solche hohen Konzentrationen treten aber während der Ruhe erfahrungsgemäß nicht auf. Nur unter der wenig wahrscheinlichen Annahme einer vergrößerten Empfindlichkeit der Knospen gegenüber WS während der Ruheperiode könnten auch bei physiologischen Konzentrationen Hemmeffekte eintreten.

2. Die Ruhe wird durch einen HS hervorgerufen, der antagonistisch zu IES wirkt und erst nach seinem Verschwinden bei günstigen Außenbedingungen eine Entwicklung der Knospen erlaubt. Letztere Hypothese ist die wahrscheinlichere und hat besonders durch die Arbeiten von Hemberg an Bedeutung gewonnen. Hemberg (1949b) benutzte zu seinen HS-Untersuchungen an *Fraxinus*-Knospen den Rohextrakt. Bei unserem Objekt fanden sich so gut wie alle HSe in der neutralen Phase. Es bestand somit die günstige Gelegenheit einer gleichzeitigen Untersuchung der sauren WSe. Obwohl die Nebenversuche an *Acer pseudoplatanus* mit den Ergebnissen Hembergs an *Fraxinus* und Pollocks (1953) an *Acer* übereinstimmten, konnten wir seine oben ausgeführte Hypothese an *Syringa*-Knospen nicht bestätigen, da der HS noch ein bis zwei Monate nach Beendigung der autonomen Ruhe in gleicher Höhe zu finden ist. Doch scheint er die aitionome Ruhe zu beeinflussen, da er stets mit Beginn der Entwicklung abnimmt. Auch die

Ergebnisse von HENDERSHOTT and BAILEY (1955), bei denen der HS-Gehalt von Pfirsich-Knospen gegen Ende der Ruhe ein Maximum erreichte, lassen keine deutlichen Beziehungen zur autonomen Ruhe der Knospen erkennen. Leider war ein genauer Vergleich mit den Werten von METZNER (1956) nicht möglich, da solche erst für den Februar vorliegen. Aber auch hier wurde das Minimum des HS-Gehaltes erst Anfang März erreicht. Die Frage wird dadurch kompliziert, daß LINSER (1951) durch chromatische Adsorption an Puderzucker zwei deutliche HS-Zonen im Fliederblätterextrakt nachweisen konnte. Da der HS nach Ausbildung der jungen Sprosse zuerst in den Blättern auftritt, kann man vermuten, daß die hemmenden Stoffe während des Sommers in die Knospen einwandern und eine progressive Ruhe verursachen. CHAMPAGNAT (1955) erzielte ebenfalls beim Flieder Ergebnisse, in die sich unsere Befunde gut einfügen. Er fand, daß eine Hemmung der Axillarknospen ausschließlich von den Blättern und nicht von der Terminalknospe ausgeht. Die Hemmung ist hormonaler Natur, doch nicht auf ein Auxin zurückzuführen. Sie beginnt, nachdem die Blätter 10 mm lang sind und bleibt bis ins Alter bestehen. Die Anzahl der Blätter, die zur totalen Hemmung eines Triebes nötig ist, vermindert sich von 12 am 15. IV. (in Straßburg) auf nur 2 einen Monat später. Vermutlich wird diese progressive Ruhe durch Ansammlung der eingewanderten HSe verursacht. Die Hemmkraft der Blätter hat aber nur einen Einfluß auf die Längenentwicklung, nicht aber auf die weitere Volumenvergrößerung der Knospen, die im Gegenteil vom Tragblatt stimuliert wird. Für das embryonale Wachstum ist vielleicht ein „Embryofaktor" (VAN OVERBEEK 1942) verantwortlich, dessen Wirkung nicht durch die HSe verhindert wird. Allerdings wurde er nur in nicht ruhenden Apfelknospen gefunden.

Die geringen WS- und die relativ hohen HS-Gehalte der Triebe zu Beginn des Wachstums und der noch jungen Blätter legen den Gedanken eines engen Zusammenhanges zwischen beiden Stoffen nahe. So entsteht der Snowsche Korrelations-HS nach LIBBERT (1954, 1955 u. 1956) durch Bindung einer HS-Vorstufe an Auxin. STEWART (1939) gelang es, aus Kotyledonen des Rettichs mit Äther einen HS zu extrahieren, der durch positive *Avena*-Koleoptilen-Krümmungen nachgewiesen wurde. Er konnte diesen HS zu WS hydrolysieren. Da unser neutraler Flieder-HS während der Entwicklung der Knospen stark abnahm, während der WS später zunahm, mußte man die Frage stellen, ob hier vielleicht etwas Ähnliches vorliege. Indessen stimmen die WS-Maxima in den Treibversuchen nicht mit den HS-Minima überein. Auch ergaben Versuche, daß weder eine kräftige alkalische noch eine saure Hydrolyse, auch nicht die Verwendung einer milderen Methode noch LIBBERT (1956) zu positiven Ergebnissen führten. Die Möglichkeit einer Umwandlung von HS

in WS ist deshalb in diesem Falle sehr unwahrscheinlich. Die Frage nach dem Charakter des HS muß daher offenbleiben.

Während der Ruheperiode konnten wir in Übereinstimmung mit den meisten Autoren keinen WS nachweisen. Söding (1940) gelang es auch im Winter ein wenig WS abzufangen, und auch Metzner (1956) konnte etwas WS extrahieren. Einen schnellen Anstieg des abgegebenen WS konnten im Frühjahr alle Autoren (Zimmermann 1936; Avery, Burkholder and Creighton 1937; Söding 1937; Gunckel and Thimann 1949) an verschiedenen Holzpflanzen feststellen. Auch wir fanden beim diffusiblen WS diese Welle, die in der ersten Periode der Entwicklung ein Maximum erreichte. Nach Söding (1937) und Avery, Burkholder and Creighton gibt der plötzlich in großer Menge abströmende WS den Anstoß für die Wiederaufnahme der Cambiumtätigkeit, während später das Cambium seinen WS selbst produziert. Gouventak (1941) konnte allerdings beweisen, daß IES das Cambium erst dann zu neuem Wachstum anregen kann, wenn dieses seine Ruhe beendet hat. Auf ruhendes Cambium gewinnt der WS erst dann Einfluß, wenn die Ruheperiode in der Natur oder mit einer der üblichen Methoden gebrochen wird. Die Beendigung der Cambium-Ruhe kann also nicht auf den WS zurückgeführt werden. Der durch Extraktion ermittelte WS-Gehalt zeigt das plötzliche Auftreten des Auxins noch deutlicher. Metzner hatte am gleichen Objekt einen noch steileren Anstieg des WS-Gehaltes und höhere Werte erhalten. Das erklärt sich wohl aus dem unterschiedlichen Witterungsverlauf. Während des Winters 1955/56 herrschten im Januar und Februar extrem niedrige Temperaturen, so daß mit plötzlich einsetzender Erwärmung die WSe besonders schnell mobilisiert wurden. In unserem Versuchsjahr hingegen, in welchem ein sehr milder Winter schon früh die Entwicklung der Knospen erlaubte, war eine Extraktion von WSen früher, dafür aber nur in geringer Menge möglich.

Bemerkenswert sind die Ergebnisse der Heißextraktion. Mit Hilfe dieser Methode gelang es, schon große Mengen WS zu einem Zeitpunkt zu gewinnen, als die kalt gewonnenen Extrakte noch keinerlei WS-Aktivität besaßen. Vermutlich handelt es sich um einen „precursor", der sich gegen Ende der Ruhe in den Knospen bildet (Bennett and Skoog 1938) und unter den Bedingungen der Extraktion zu WS umgewandelt wird. Dieser Stoff kann nicht identisch sein mit dem von van Overbeek, Vazquez and Gordon (1947) angegebenen „bound auxin", denn dieses wird in 15stündiger Extraktion bei niederen Temperaturen gewonnen, eine Methode, die bei uns zur gleichen Zeit keine positiven Werte brachte.

Vermutlich ist der wichtigste Teil der WSe IES. Der zweite papierchromatisch im Biotest nachgewiesene WS könnte mit dem aktiven Stoff identisch sein, den Linser (1951) im Fliederblätterextrakt durch Adsorption an Puderzucker erhielt.

Obwohl eine Fülle an Treibmethoden entwickelt wurde, gelang es bisher nicht, eine allgemein gültige Erklärung für ihre Wirksamkeit zu finden. HEMBERG (1949b) konnte feststellen, daß in *Fraxinus*-Knospen der HS-Gehalt nach einer Äthylenchlorhydrin-Behandlung in gleicher Weise abnimmt, wie er dies gegen Ende der Ruhe gefunden hatte. Wir konnten bei unseren Treibversuchen schon nach 24 Stunden ebenfalls eine Abnahme des HS-Gehaltes feststellen. Der Gehalt erreicht dann aber nach anfänglicher Zunahme und Schwankung erst im Verlauf der weiteren Entwicklung niedrige Werte. Der niedrige HS-Gehalt scheint in unserem Falle nicht eine unumgängliche Voraussetzung für den Beginn der Entwicklung zu sein. Die Anwendung von WSen hat bei Treibversuchen nur einen geringen Erfolg. So erzielten zwar AMLONG und NAUNDORF (1939) und BORGSTRÖM (1939) gute Ergebnisse, MITCHELL and CULLINAN (1942) und BENNETT and SKOOG (1938) aber nur sehr schwache Effekte, während BOYSEN-JENSEN (1935) gar keine Wirkung fand. Es ist zu vermuten, daß auch die WSe erst sekundär auftreten. Nachdem sich ergeben hatte, daß der in den Fliederknospen sicher nachgewiesene HS die autonome Ruhe nicht bedingt, ergibt sich die Frage, ob ein anderer Stoff darauf Einfluß hat. In neueren Arbeiten werden darüber folgende Angaben gemacht: GUTHRIE (1940) führt die Wirksamkeit von Hefeextrakten auf Baumknospen (BENNETT and SKOOG 1938) zuerst auf Glutathion zurück, findet dann aber (GUTHRIE 1941) einen adeninhaltigen Stoff (vermutlich ein Nucleotid), der eine viel stärkere Wirkung ausübt als Glutathion. Vielleicht ist auch der wirksame Stoff mit Hormoncharakter bei RICHTER und KRASNOSSELSKAYA (1945) und DANILOV (1946), der in aktiven Knospen vorhanden ist, mit dem von GUTHRIE gefundenen adeninhaltigen Stoff in Beziehung zu bringen. Dieser adeninhaltige Stoff bildet sich vielleicht bei natürlicher Beendigung der Ruhe oder nach Behandlung mit einem Treibmittel und veranlaßt die Knospen bei sonst günstigen Außenbedingungen zur Wiederaufnahme des Wachstums. Interessant ist nun die Tatsache, daß es SKOOG und Mitarbeitern gelang, einen neuen Wachstumsregulator speziell für die Zellteilung nachzuweisen (LANG, Fortschritte der Botanik XVII u. XVIII). Dieses Kinetin I ist ein 6-Furfurylaminopurin. Es dürfte der Vertreter einer neuen Klasse von Wachstumsregulatoren sein, und es liegt nahe, in GUTHRIEs adeninhaltigem Stoff eine ähnliche Substanz zu vermuten.

Zusammenfassung der Ergebnisse

1. Es konnte aus Fliederknospen ein äther- und wasserlöslicher HS extrahiert werden, der während des Herbstes und Winters in großer Menge vorhanden ist. Mit Beginn einer Entwicklung nimmt der HS-Gehalt der Knospen ab und erreicht sein Minimum zur Zeit des intensivsten Wachstums. Die Verringerung des HS-Gehaltes beginnt erst *nach* der Beendigung der Ruheperiode.

2. Bei den Blattknospen wurde nach Erreichen des Minimums ein Wiederanstieg des HS-Gehaltes beobachtet, der auf den wachsenden HS-Gehalt in den Blättern zurückgeführt werden konnte.

3. Die Knospen von *Acer pseudoplatanus* zeigten im Gegensatz zu *Syringa vulgaris* schon lange vor der ersten Entwicklung eine starke Verminderung des HS-Gehaltes.

4. Es konnte schon vor Beginn des sichtbaren Wachstums WS extrahiert werden.

5. Der Nachweis des diffusiblen WS gelang noch mehr als einen Monat später, nachdem sein Nachweis im Extrakt nicht mehr möglich war.

6. Ein Vergleich der Heißextraktion mit der üblichen Ausführung bei Zimmertemperatur ergab nur während einiger Wochen kurz vor Beginn des Wachstums einen Unterschied. Die Möglichkeit, mit der Heißextraktion WSe zu gewinnen, während die Extraktion bei Zimmertemperatur noch keine Winkel ergibt, wurde durch die Hydrolyse eines precursors erklärt.

7. Die Blätter besitzen einen hohen HS-Gehalt. Kurz vor dem Laubfall lassen sich bei Flieder- und Ahornblättern reichlich WSe extrahieren, die als Abbauprodukte aufzufassen sind.

8. Die Treibversuche zeigten die größere Wirksamkeit des Ätherverfahrens gegenüber dem Warmbad. Der HS-Verlauf ist nach anfänglich schneller Abnahme ähnlich wie bei der natürlichen Entwicklung. Im November konnten WSe trotz sichtbarer Entwicklung der Knospen nicht getestet werden. Im Januar und Februar dagegen gelang die Extraktion und das Abfangen des WSes in reichlicher Menge.

9. Neben IES ist noch eine zweite WS-Komponente papierchromatographisch im Biotest nachweisbar.

10. Die getesteten HSe sind keine Gerbstoffe.

Literatur

AMLONG, H. U., u. G. NAUNDORF: Über die Bedeutung der Wuchsstoffe für das Frühtreiben. Gartenbauwiss. **12**, 116—120 (1939). — AVERY, G. S., P. R. BURKHOLDER and H. CREIGHTON: Production and distribution of growth hormones in shoots of Aesculus and Malus and its probable role in stimulating cambial activity. Amer. J. Bot. **24**, 51—58 (1937). — BENNETT, J. P., and F. SKOOG: Preliminary experiments on the relation of growth promoting substances to the rest period in fruit trees. Plant Physiol. **13**, 219—225 (1938). — BORGSTRÖM, G.: The transverse reactions of plants. Thesis Lund, 1939, 230 S. — BOYSEN-JENSEN, P.: Die Wuchsstofftheorie. Jena: Gustav Fischer 1935. — Quantitative Bestimmung der beschleunigenden Streckungswuchsstoffe in der sauren Fraktion der Ätherextrakte aus höheren Pflanzen. Planta (Berl.) **31**, 653—669 (1941). — CHAMPAGNAT, P.: Les correlations entre feuilles et bourgeons de la pousse herbacée du lilas. Rev. gén. Bot. **62**, 325—371 (1955). — CHANDLER, W. H., M. H. KIMBALL, G. L. PHILP, W. P. TUFTS and GEO. P. WELDON: Chilling requirements for opening

of buds on deciduous orchard trees and some other plants in California. Agricultural Experiment Station, Berkeley, California, Bull. No 611, 63 S. 1937. — CZAJA, A. TH.: Der Nachweis des Wuchsstoffes bei Holzpflanzen. Ber. dtsch. bot. Ges. **52**, 267—271 (1934). — DANILOV, M. D.: On the breaking of winter rest by buds of woody plants. C. R. (Doklady) Acad. Sci. URSS. **53**, 267—269 (1946). — DENNY, F. E., and E. N. STANTON: Chemical treatments for shortening the rest period of pot-grown woody plants. Amer. J. Bot. **15**, 327—336 (1928a). — Localization of response of woody tissues to chemical treatments that break the rest period. Amer. J. Bot. **15**, 337—344 (1928b). — DOORENBOS, J.: Review of the literature on dormancy in buds of woody plants. Meded. Landbouwhooge-school Wageningen **53**, 1—24 (1953). — EGGERT, F. P.: The auxin content of spur buds of apple as related to the rest period. Proc. Amer. Soc. horticult. Sci. **62**, 191—199 (1953). — GALSTON, A. W., and M. E. HAND: Studies on the physiology of light action. I. Auxin and the light inhibition of growth. Amer. J. Bot. **36**, 85—94 (1949). — GOUVENTAK, C. A.: Cambial activity as dependent on the presence of growth hormone and the non resting condition of stems. Proc. Ned. Akad. Wetensch. **44** (5), 654—663 (1941). — GUNCKEL, J. E., and K. V. THIMANN: Studies of development in long shoots and short shoots of Ginkgo biloba L. III. Auxin production in shoot growth. Amer. J. Bot. **36**, 145—151 (1949). — GUTHRIE, J. D.: Rôle of glutathione in the breaking of the rest period of buds by ethylene-chlorhydrin. Contrib. Boyce Thompson Inst. **11**, 261—270 (1940). — A preparation from yeast that is active in breaking the rest period of buds. Contrib. Boyce Thompson Inst. **12**, 195—201 (1941). — GUTTENBERG, H. v., u. E. LEHLE-JOERGES: Über das Vorkommen von Auxin und Heteroauxin in ruhenden und keimenden Samen. Planta (Berl.) **35**, 281—296 (1948). — GUTTENBERG, H. v., u. K. ZETSCHE: Der Einfluß des Lichtes auf die Auxinbildung und den Auxintransport. Planta (Berl.) **48**, 99—134 (1956). — HEMBERG, T.: Studies of auxins and growth inhibiting substances in the potato tuber and their significance with regard to its rest period. Acta Horti berg. **14**, 133—220 (1947). — Significance of growth inhibiting substances and auxins for the rest period of the potato tuber. Physiol. Plantarum (Cph.) **2**, 24—36 (1949a). — Growth inhibiting substances in the terminal buds of Fraxinus. Physiol. Plantarum (Cph.) **2**, 37—44 (1949b). — The significance of the acid growth inhibiting substances for the rest period of the potato tuber. Physiol. Plantarum (Cph.) **5**, 115—129 (1952). — HENDERSHOTT, C. H., and L. F. BAILEY: Growth inhibiting substances in extracts of dormant flower buds of peach. Proc. Amer. Soc. horticult. Sci. **65**, 85—92 (1955). — JOHANNSEN, W.: Das Ätherverfahren beim Frühtreiben mit besonderer Berücksichtigung der Fliedertreiberei. Jena: Gustav Fischer 1900. 28 S. — KRASNOSSELSKAYA, T. A., and A. A. RICHTER: Transport of break of winter dormancy of buds along branches of woody plants. C. R. (Doklady) Acad. Sci. URSS. **35**, 184—186 (1942). — KRAUS, G.: Über den täglichen Stoffwechsel im Zellsaft. Darin: d) Gerbstoffe. S.-B. Nat. Ges. Halle, 5. 8. 1882, S. 26—27. — Die Rolle der Gerbstoffe im Stoffwechsel der Pflanzen. S.-B. Nat. Ges. Halle, 5. 11. 1884, S. 46—57. — KÜHN, O.: Das Austreiben der Holzgewächse und seine Beeinflussung durch äußere Faktoren. Jb. wiss. Bot. **57**, 1—16 (1916). — LAKON, G.: Die Beeinflussung der Winterruhe der Holzgewächse durch die Nährsalze. Z. Bot. **4**, 561—582 (1912). — LANG, A.: Fortschr. Bot. **17**, 745, § 43; **18**, 302, § 24. — LARSEN, P.: On the separation of acidic and non acidic auxins. Physiol. Plantarum (Cph.) **8**, 343—357 (1955a). — Growth substances in higher plants. In K. PAECH u. M. V. TRACEY, Moderne Methoden der Pflanzenanalyse, Bd. III, S. 565—625. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955b. — LIBBERT, E.: Das Zusammenwirken von Wuchs- und Hemmstoffen bei der korrelativen Knospenhemmung. I. Planta (Berl.) **44**, 286—318

(1954); II. Planta (Berl.) **45**, 68—81 (1955). — Die Hydrolyse des Korrelationshemmstoffes zu Auxin. Planta (Berl.) **46**, 256—271 (1956). — Linser, H.: Über das Vorkommen von Hemmstoff in Pflanzenextrakten, sowie über das Verhältnis von Wuchsstoffgehalt und Wuchsstoffabgabe bei Pflanzen oder Pflanzenteilen. Planta (Berl.) **31**, 32—59 (1940). — Versuche zur chromatographischen Trennung pflanzlicher Wuchsstoffe. Planta (Berl.) **39**, 377—404 (1951). — Linskens, H. F.: Papierchromatographie in der Botanik. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955. — Metzner, G.: Untersuchungen über den Wuchs- und Hemmstoffhaushalt ruhender und treibender Knospen von Syringa vulgaris. Diplomarbeit, Rostock 1956. Unveröffentlicht. — Mitchell, J. W., and F. P. Cullinan: Effects of growth regulating chemicals on the opening of vegetative and floral buds of peach and pear. Plant Physiol. **17**, 16—26 (1942). — Molisch, H.: Das Warmbad als Mittel zum Treiben der Pflanzen. Jena: Gustav Fischer 1909. 38 S. — Overbeek, J. van: Hormonal control of embryo and seedling. Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol. **10**, 126—134 (1942). — Overbeek, J. van, E. S. Vazquez and S. A. Gordon: Free and bound auxin in the vegetable pineapple plant. Amer. J. Bot. **34**, 266—270 (1947). — Pätau, K.: Zur statistischen Beurteilung von Messungsreihen. (Eine neue t-Tafel.) Biol. Zbl. **63**, 152—168 (1943). — Pfeffer, W.: Pflanzenphysiologie. II. Kraftwechsel. 2. Aufl. Leipzig: Wilhelm Engelmann 1904. — Pollock, B. M.: The respiration of Acer buds in relation to the inception and termination of the winter rest. Physiol. Plantarum (Cph.) **6**, 47—64 (1954). — Richter, A. A., and T. A. Krasnosselskaya: A contribution to the knowledge of the breaking of winter dormancy in buds of woody plants. C. R. (Doklady) Acad. Sci. URSS. **47**, 218—219 (1945). — Samish, R. M.: Dormancy in woody plants. Ann. Rev. Plant Physiol. **5**, 183—204 (1954). — Schmidt, O. Th.: Die natürlichen Gerbstoffe. In K. Paech u. M. V. Tracey: Moderne Methoden der Pflanzenanalyse, Bd. III, S. 517—548. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955. — Simon, S.: Untersuchungen über das Verhalten einiger Wachstumsfunktionen, sowie der Atmungstätigkeit der Laubhölzer während der Ruheperiode. Jb. wiss. Bot. **43**, 1—48 (1906). — Skoog, F.: Experiments on bud inhibition. Amer. J. Bot. **26**, 702—707 (1939). — Söding, H.: Wuchsstoff und Kambiumtätigkeit der Bäume. Jb. wiss. Bot. **84**, 639—670 (1937). — Eine Beobachtung an Syringapfropfungen. Ber. dtsch. bot. Ges. **57**, 185—188 (1939). — Weitere Untersuchungen über die Wuchsstoffregulation der Kambiumtätigkeit. Z. Bot. **36**, 113—141 (1940). — Die Wuchsstofflehre. Stuttgart: Georg Thieme 1952. — Steward, F. C., and S. M. Caplin: Investigation on growth and metabolism of plant cells. III. Evidence for growth inhibitors in certain mature tissues. Ann. Botany **16**, 477—489 (1952). — Stewart, W. S.: A plant growth inhibitor and plant growth inhibition. Bot. Gaz. **101**, 91—108 (1939). — Westermaier, M.: Zur physiologischen Bedeutung des Gerbstoffes in den Pflanzen. S.-B. Berl. Akad., math.-nat. Kl. II **49**, 1115—1126 (1885). — Neue Beiträge zur Kenntnis der physiologischen Bedeutung des Gerbstoffes in den Pflanzengeweben. S.-B. Berl. Akad., math.-nat. Kl. II **10**, 127—144 (1887). — Zimmermann, W. A.: Untersuchungen über die räumliche und zeitliche Verteilung des Wuchsstoffes bei Bäumen. Z. Bot. **30**, 209—252 (1936).

Prof. Dr. H. von Guttenberg,
Rostock, Botanisches Institut der Universität, Doberaner Str. 143

Aufnahmebedingungen

Die Arbeit muß dem Gebiet der Zeitschrift angehören und wissenschaftlich Neues bringen. Arbeiten, die ausschließlich praktischen Zwecken dienen, scheiden aus.

Bei Arbeiten aus Instituten ist eine Erklärung des Direktors oder eines Abteilungsleiters beizufügen, daß er mit der Publikation der Arbeit aus dem Institut bzw. der Abteilung einverstanden ist und den Verfasser auf die Aufnahmebedingungen aufmerksam gemacht hat.

Das Manuskript muß leicht leserlich geschrieben und völlig druckfertig sein; andernfalls sind Verzögerungen im Erscheinen unvermeidlich. Korrekturen im Satz müssen auf das sachlich Notwendige beschränkt werden.

Für die Rechtschreibung ist die „Wissenschaftliche Rechtschreibung nach Jansen" maßgebend, mit der die Schreibung der Termini im „Handwörterbuch der Naturwissenschaften" (Jena 1931—1934) im wesentlichen übereinstimmt. Wenn nötig, wird die Angleichung durch die Herausgeber bzw. durch die Druckerei vorgenommen.

Die Darstellung soll möglichst kurz sein. Ergebnisse dürfen nicht gleichzeitig in Tabellen- und Kurvenform dargestellt werden.

Die Abbildungen sind auf das Notwendigste zu beschränken, insbesondere die Reproduktion von Photographien. Einzelfiguren einer Abbildung sind, falls es sich um Vorlagen für Strichätzungen handelt, wenn möglich so zusammenzustellen, daß sie in *einem* Klischee bei gleicher Verkleinerung reproduziert werden können. Buchstaben u. a. sind mit Bleistift beizufügen.

Die Texte zu den Abbildungen sind auf eigenem Blatt gesammelt beizugeben.

Bei einleitenden Literaturbesprechungen soll möglichst auf zusammenfassende Darstellungen verwiesen und nur das zum unmittelbaren Verständnis Notwendige gebracht werden.

Der Arbeit ist eine Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse (höchstens 1 Seite) anzufügen, die in Deutsch oder Englisch oder Französisch abgefaßt sein kann.

Zu den Literaturverzeichnissen: Bei Zeitschriftenartikeln sollen der Titel sowie erste und letzte Seite angegeben werden. In den Titeln von Büchern aller Sprachen sollen, zur Kennzeichnung gegenüber Artikeln in Zeitschriften, Substantiva wie Adjektiva groß, dagegen in den Abkürzungen von Zeitschriftentiteln die Substantiva groß und die Adjektiva klein geschrieben werden (z. B. Cell Res., aber cell. Physiol.).

Sitzungsberichte der Heidelberger Akademie der Wissenschaften

Mathematisch-naturwissenschaftliche Klasse. Jahrgang 1958.

1. Abhandlung: **Beitrag zur Kenntnis der peruanischen Kakteenvegetation** Von **Werner Rauh,** Botanisches Institut der Universität Heidelberg. Mit 234 Textabbildungen. 542 Seiten Gr.-8°. 1958. DM 113.40

Inhaltsübersicht: Einleitung. — **I. Pflanzengeographischer Teil.** Zur Orographie des Landes. — Zur Klimatologie des Landes: Die Niederschlagsverhältnisse in der Küstenwüste und der Andenwestseite. Niederschlag und Temperatur in den interandinen Trockentälern. — Die in Peru beheimateten Kakteengattungen. — Zur Verbreitung und Vergesellschaftung peruanischer Kakteen: Zur Kakteenvegetation der Küstensandwüste, der Loma-Formation, des nördlichen Andenvorlandes, der Andenwestseite, der interandinen Trockentäler, der hochandinen Region. — Literaturnachweis zu Teil I. — **II. Systematisch-beschreibender Teil.** — Literaturnachweis zu Teil II.

SPRINGER-VERLAG / BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Protoplasmatologia

Handbuch der Protoplasmaforschung

Unter Mitwirkung hervorragender internationaler Fachleute herausgegeben von **L. V. Heilbrunn,** Philadelphia, und **F. Weber,** Graz. In 14 Bänden.

Band II: Cytoplasma. A. Morphologie. 1. Mikroskopische Morphologie. a), b), c):

Cytoplasma-Struktur in Pflanzenzellen

Von **Lotte Reuter,** Wien. Mit 27 Textabbildungen. IV, 44 Seiten.

Intravakuoläres Protoplasma

Von **Ernst Küster†.** Mit 7 Textabbildungen. 12 Seiten.

Plasmodesmata (Vegetable Kingdom)

By **A. D. J. Meeuse,** Pretoria. With 14 figures. 43 Seiten Gr.-8°. 1957. DM 31.—
* Subskriptionspreis DM 25.—

Band II: Cytoplasma. B. Chemie. 2. Spezielle Cytochemie und Histochemie. b). Organische Verbindungen. α):

Die Ascorbinsäure in der Pflanzenzelle

Von **Helmut Metzner,** Göttingen. Mit 26 Textabbildungen. IV, 68 Seiten.

Vitamin C in the Animal Cell

By **G. H. Bourne,** London. With 49 figures. 91 Seiten Gr.-8°. 1957. DM 50.—
* Subskriptionspreis DM 40.—

Band X: Pathologie des Protoplasmas. 3.:

Effets biologiques des radiations. Aspects biochimiques

Par **Maurice Errera,** Bruxelles. Avec 27 figures. IV, 241 Seiten Gr.-8°. 1957. DM 71.—
* Subskriptionspreis DM 57.—

* Bei Verpflichtung zur Abnahme des gesamten Handbuches und für Abonnenten der Zeitschrift „Protoplasma".

SPRINGER-VERLAG / WIEN

Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg — Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg
Printed in Germany